

THÈSES

présentées

à la FACULTÉ DES SCIENCES DE NANCY

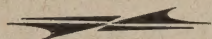
pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR-ÈS-SCIENCES

par

Paul Robert LEHR

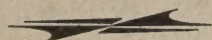
*Docteur du 3^{ème} cycle de Biochimie appliquée
Attaché de recherches au C. N. R. S.*



1^{re} THÈSE : Action exercée par le jeûne protéique sur certains aspects du métabolisme azoté de l'écorce cérébrale du Rat adulte.

2^e THÈSE : Proposition donnée par la Faculté.
Transformation des stéroïdes par action des microorganismes.

Soutenues le 18-11-1967 devant la Commission d'Examen



M. B. CONDE		Président
M. J. GAYET		Rapporteur
M. R. GAY	}	Examineurs
M. G. BISERTE		

THÈSES

présentées

à la FACULTÉ DES SCIENCES DE NANCY

pour obtenir

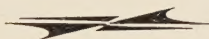
LE GRADE DE DOCTEUR-ÈS-SCIENCES

par

Paul Robert LEHR

Docteur du 3^{ème} cycle de Biochimie appliquée

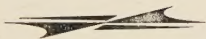
Attaché de recherches au C. N. R. S.



1^{re} THÈSE : Action exercée par le jeûne protéique sur certains aspects du métabolisme azoté de l'écorce cérébrale du Rat adulte.

2^e THÈSE : Proposition donnée par la Faculté.
Transformation des stéroïdes par action des microorganismes.

Soutenues le 18-11-1967 devant la Commission d'Examen



M. B. CONDE		Président
M. J. GAYET		Rapporteur
M. R. GAY	}	Examineurs
M. G. BISERTE		



Première Thèse

Action exercée par le jeûne protéique
sur certains aspects du métabolisme
azoté de l'écorce cérébrale du Rat
adulte.





Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DES SCIENCES

DOYEN : M. AUBRY

Assesseur : M. GAY

Doyens honoraires : MM. CORNUBERT, DELSARTE, ROUBAULT.

Professeurs honoraires : MM. RAYBAUD, LAFFITTE, LERAY, JULY, LAPORTE, EICHHORN, GODEMENT, DUBREUIL, L. SCHWARTZ, DIEUDONNE, DE MALLEMANN, LONGCHAMBON, LETORT, DODE, GAUTHIER, GOUDET, OLMER, CORNUBERT, CHAPELLE, GUERIN, WAHL.

Maîtres de Conférences Honoraires : MM. LIENHART, PIERRET.

PROFESSEURS :

- | | |
|--|---|
| MM. DELSARTE, Analyse Supérieure | MM * MALAPRADE, Chimie |
| ROUBAULT, Géologie | MANGENOT, Botanique |
| CAPELLE, Mécanique Rationnelle | GAYET, Physiologie |
| VEILLET, Biologie Animale | BONVALET, Mécanique Appliq. |
| BARRIOL, Chimie Théorique | HADNI, Physique |
| BIZETTE, Physique | * BASTICK, Chimie |
| GUILLIEN, Electronique | DUCHAUFOR, Pédologie |
| GIBERT, Chimie Physique | GARNIER, Agronomie |
| LEGRAS, Mécanique Rationnelle | NEEL, Chimie Organique |
| BOLFA, Minéralogie &
Cristallographie | Industrielle |
| NICLAUSE, Chimie | BERNARD, Géologie Appliquée |
| FAIVRE, Physique appliquée | * CHAMPIER, Physique |
| AUBRY, Chimie Minérale | * GAY, Chimie Biologique |
| COPPENS, Radiogéologie | STEPHAN, Zoologie |
| DUVAL, Chimie | * CONDE, Zoologie |
| FRULHING, Physique | * WERNER, Botanique |
| HILLY, Géologie | EYMARD, Calcul Différentiel et
intégral |
| LE GOFF, Génie Chimique | LEVISALLES, Chimie Organique |
| SUHNER, Physique Expérimentale | Mme HERVE, Méthodes Mathématiques
de la Physique |
| CHAPON, Chimie Biologique | * GOSSE, Mécanique Physique |
| HEROLD, Chimie Minérale
Industrielle | FELDEN, Physique |
| SCHWARTZ B., Exploitation
Minière | * DAVOINE, Physique (ENSMIM) |
| | N....., Chimie Biologique |

* Professeur titulaire à titre personnel.

MAITRES DE CONFÉRENCES

Mme BASTICK	Chimie M.P.C. (Epinal)
MM. GUDEFIN	Physique
ROCCI	Géologie
VUILLAUME	Psychophysiologie
FRENTZ	Biologie Animale
HORN	Physique propédeutique
LAFON	Physique (I.S.I.N.)
MARI	Chimie (I.S.I.N.)
AUROUZE	Géologie
DEVIOT	Physique du solide
FLECHON	Physique M.P.C.
Melle HUET	Mathématiques S.P.C.N. (en disponibilité)
VIGNES	Métallurgie
BALESDENT	Thermodynamique chimique appliquée
BLAZY	Minéralogie appliquée (E.N.S.G.)
JANOT	Physique M.P.C. (Epinal)
JACQUIN	Pédologie et chimie agricole
MAINARD	Physique M.G.P.
CACHAN	Entomologie appliquée (E.N.S.A.)
MARTIN	Chimie M.P.C.
PAULMIER	Mécanique Expérimentale
PROTAS	Minéralogie
COURTILLOT	Mécanique des Fluides
JOZEFOWICZ	Physico-chimie
JURAIN	Géologie (S.P.C.N.)
RIVAIL	Chimie appliquée (C.U.C.E.S.)
VILLERMAUX	Génie Chimique
METCHE	Biochimie appliquée (Brasserie)
N...	Probabilités et statistiques
N...	Mécanique (I.S.I.N.)
N...	Mathématiques
N...	Mathématiques M.P.C.
N...	Mathématiques S.P.C.N.
N...	Mathématiques appliquées
N...	Mécanique des Fluides (I.S.I.N.)
N...	Physiologie animale
N...	Mathématiques M.P.

A la mémoire de mon père

A ma mère

AVANT-PROPOS

Le présent travail a été effectué au Laboratoire de Physiologie générale, sous la direction de Monsieur le Professeur J. GAYET.

Notre maître trouvera ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour l'intérêt qu'il nous a témoigné et la formation scientifique qu'il nous a permis d'acquérir dans son laboratoire.

Nous remercions vivement Monsieur le Professeur B. CONDE d'avoir accepté de présider notre jury et Monsieur le Professeur R. GAY qui a bien voulu nous donner notre deuxième sujet.

Nous sommes extrêmement reconnaissant à Monsieur le Docteur G. BISERTE, Professeur à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Lille, d'avoir consenti le dérangement d'un déplacement à Nancy pour siéger à notre jury; nous tenons encore à le remercier pour les conseils qu'il nous a prodigués lors de notre stage à Lille.

Nos remerciements vont également à Monsieur le Docteur P. MANDEL, Professeur à la Faculté de Médecine de Strasbourg, qui nous a fait l'honneur d'accepter de nous parrainer au Centre National de la Recherche Scientifique.

Heureux d'en trouver ici l'occasion, nous adressons nos remerciements à tous ceux qui ont facilité notre travail par leur aide précieuse, en particulier :

Monsieur le Professeur P. BOULANGER, Directeur du Laboratoire de Chimie biologique de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Lille qui a bien voulu nous recevoir dans son laboratoire pour y effectuer un stage de perfectionnement.

Monsieur le Docteur R. JACQUOT, Directeur du Laboratoire de Biochimie de la nutrition du C.N.R.S. à Bellevue, pour ses précieux conseils concernant les problèmes de nutrition, lors de notre stage dans son laboratoire.

Monsieur le Docteur P. FROMAGEOT, du Département de Biologie au Centre d'études nucléaires de Saclay, pour tous les conseils qu'il nous a prodigués dans le domaine de l'utilisation des radioisotopes.

Monsieur le Directeur de l'Institut national des Sciences et techniques nucléaires qui nous a permis de suivre l'enseignement de recherche aux utilisateurs de radioéléments.

Nous tenons enfin à témoigner notre gratitude à Monsieur le Directeur du Centre National de la Recherche Scientifique pour l'aide et les facilités qu'il nous a accordées en nous acceptant au sein de cette Communauté Scientifique.

ABRÉVIATIONS

ACTH	cortico - stimuline ou hormone adrénocorticotrope
ADN	acide désoxyribonucléique
ADP	adénosine diphosphate
AMP	adénosine monophosphate
ARN	acide ribonucléique
ATC	acide trichloracétique
ATP	adénosine triphosphate
c.p.m.	coups par minute
EEG	électroencéphalogramme
NAD	nicotinamide - adénine - dinucléotide (ou diphospho - pyridine - nucléotide (DPN))
NADP	nicotinamide - adénine - dinucléotide - phosphate (ou triphospho - pyridine - nucléotide (TPN))
P-ADN	phosphore de l'ADN
U- ¹⁴ C	uniformément marqué au ¹⁴ C

INTRODUCTION

Un grave problème préoccupe actuellement le monde : la faim. Celle-ci apparaît sous deux aspects différents. La forme la plus anciennement connue est la faim aiguë ; il s'agit ici d'une déficience quantitative. L'organisme ne reçoit plus la quantité d'énergie nécessaire pour subvenir à ses besoins : c'est la famine classique qui est liée à la guerre ou à des cataclysmes naturels tels que séismes, sécheresses ou inondations.

La seconde forme, aujourd'hui la plus répandue, mais dont on ne connaît l'existence que depuis le début du XX^e siècle, est la faim spécifique due à la carence en certains composés chimiques, indispensables à l'organisme. Différents types de carence peuvent retenir notre attention : les carences en éléments minéraux, les carences en vitamines, et enfin, et c'est cette dernière qui est la plus fréquente dans le monde, la carence en protéines.

Pour maintenir son équilibre ou assurer sa croissance, l'organisme doit recevoir dans sa ration alimentaire une quantité minima de protéines afin qu'il y ait équilibre azoté, c'est-à-dire égalité entre les recettes et les dépenses d'azote. Un organisme, recevant une quantité insuffisante de protéines, continuera à éliminer de l'azote en le prélevant sur ses propres protéines tissulaires. Il est bien évident que la quantité d'azote à fournir à un organisme adulte n'est pas identique à celle qu'exige un organisme en croissance.

Les protéines par suite de leur composition variable en acides aminés, n'ont pas une valeur alimentaire identique. Celle-ci est dominée par la notion d'acides aminés indispensables ; l'Homme adulte, pour le maintien de son équilibre azoté, requiert huit acides aminés : lysine, tryptophane, phénylalanine, thréonine, valine, méthionine, leucine et isoleucine. On distingue en général, les protéines animales que l'on rencontre dans la chair des animaux, dans les œufs et dans le lait, des protéines végétales, dont la valeur alimentaire est nettement inférieure : ces dernières ne renferment pas tous les acides aminés indispensables à l'organisme. Il est par conséquent recommandé d'établir une ration mixte renfermant au minimum 30% de protéines animales (POLO-NOVSKI, 1961).

Or, si nous analysons les régimes alimentaires des populations souffrant de carence protéique, nous constatons que ceux-ci présentent des déficiences protéiques autant quantitatives que qualitatives ; les régimes varient d'ailleurs suivant les régions géographiques. Cependant, il semble que le manque de protéines animales apparaisse comme un facteur commun à tous les régimes. Ce manque de protéines animales constitue bien le drame des pays pauvres, car les aliments renfermant les protéines de cette catégorie sont les plus coûteux. Il en découle, par conséquent, que les régions du monde touchées par la carence protéique sont essentiellement les pays sous-développés, les pays pauvres : Amérique du Sud, Amérique Centrale, Antilles, Afrique, Inde, Chine, Japon, Indonésie.

Comment se traduit cette carence ? Si nous considérons l'Homme adulte, nous constatons que le manque de protéines exerce une influence sur la taille de l'individu. Les groupements humains qui consomment des protéines animales sous la forme de viande et de lait ont une taille et une résistance physique très supérieures à ceux qui ne consomment que des protéines végétales : on peut supposer que la taille et le poids d'un grand nombre d'Asiatiques, Chinois, Japonais, Vietnamiens, se sont réduits par l'effet d'une dénutrition chronique qui s'est perpétuée durant des siècles. D'ailleurs des Chinois émigrés aux Etats-Unis voient leur taille s'accroître de génération en génération (MORGAN, 1965).

Cette carence apparaît nettement mieux si nous nous adressons à un organisme en croissance. L'enfant en effet, est sujet à une maladie connue sous le nom de *Kwashiorkor* (le terme de kwashiorkor, proposé en 1935 par Cicely WILLIAMS, est tiré du langage d'une tribu ashanti de l'Etat du Ghana); cette maladie est à l'origine d'un taux de mortalité élevé. Si la mortalité des enfants âgés de 1 à 4 ans aux Etats-Unis et dans la plupart des pays d'Europe Occidentale est actuellement voisine de 1 ‰, dans les pays sous-développés, elle est de 10 à 45 ‰. (voir tableau ci-dessous).

Tableau - Taux de mortalité (‰) chez les enfants âgés de 1 à 4 ans, dans différents pays. (1955-1956) (SCRIMSHAW & BEHAR, 1961).

Pays où le kwashiorkor est rare ou inexistant	Taux de mortalité	Pays où le kwashiorkor est commun	Taux de mortalité
Argentine	3,8	Colombie	20,3
Australie	1,3	Equateur	28,8
Belgique	1,6	Egypte	60,7
Canada	1,5	El Salvador	22,7
France	1,6	Guatemala	42,7
Japon	3,8	Guinée	55,4
Pays-Bas	1,2	Mexique	24,0
Suède	1,0	Thaïlande	14,5
Etats-Unis	1,1	Venezuela	12,5

Le fait que les enfants meurent entre 1 et 4 ans, et que le taux de mortalité est supérieur à 10 ‰ permet de conclure à une alimentation déficiente en protéines (BENGGOA & Coll., 1959). La plupart des morts dues à une carence en protéines surviennent après le sevrage, donc après l'âge d'un an; avant le sevrage, le lait maternel fournit à l'enfant toutes les protéines dont il a besoin pour croître. Il faut cependant noter qu'ici l'état nutritionnel de la mère peut jouer un rôle important sur l'état de santé de l'enfant.

Une autre forme de sous-alimentation, le *Marasme*, peut apparaître chez l'enfant; dans ce cas, l'enfant, carencé en protéines comme dans le cas du kwashiorkor, reçoit une ration alimentaire dont la quantité de calories est insuffisante. Le marasme est plus répandu chez les enfants de moins d'un an, alors que le kwashiorkor se rencontre davantage chez les enfants de 2 à 3 ans (SCRIMSHAW & BEHAR, 1961).

I) LA CARENCE EN PROTÉINES

Si on observe une déficience protéinique dans le kwashiorkor ainsi que dans les différents états cliniques du marasme, il semble que les différences entre ces deux maladies soient dues à un excès relatif de glucides dans la ration alimentaire des enfants atteints de kwashiorkor. (Mc DONALD, 1960; Mc DONALD & GHARAVI, 1960).

Les expériences de HEARD, PLATT & STEWART (1958) sur les jeunes Porcs plaident en faveur de cette hypothèse : les Porcs nourris à l'aide d'un régime pauvre en protéines, présentent un syndrome ressemblant au marasme observé chez les enfants. L'adjonction au régime de calories supplémentaires, en l'occurrence de glucides, loin d'améliorer l'état de l'animal, précipite celui-ci dans une forme de déficience protéique ressemblant au kwashiorkor. En étudiant l'influence de quantités variables de saccharose dans un régime pauvre en protéines chez le Lapin, Mc DONALD et GHARAVI (1960) parviennent aux mêmes conclusions.

Le tableau clinique d'une sévère déficience en protéines apparaît donc lié à la quantité de calories fournie à l'organisme : si cette déficience protéique est accompagnée d'une ration satisfaisante ou même excessive en calories, il y a kwashiorkor; si, par contre, cette ration est insuffisante en calories, nous aboutissons au marasme. Il est cependant difficile d'établir une distinction nette entre kwashiorkor et marasme; il existe en effet tous les cas intermédiaires où les caractéristiques des deux maladies sont plus ou moins superposées; on parle alors de kwashiorkor marasmique. (JELLIFFE, BRAS & STUART, 1954; SCRIMSHAW & BEHAR, 1961).

Des symptômes attribuables à des déficiences en vitamines ou en certains éléments minéraux sont habituellement observés chez les enfants atteints de kwashiorkor ou de marasme : troubles de la vue, caractérisant une déficience en vitamine A; lésions de la conjonctive et de la muqueuse buccale dues à une carence en riboflavine. La fréquence de tels symptômes varie beaucoup d'une région à une autre; ils apparaissent comme surimposés aux manifestations de base des déficiences en calories et en protéines.

II) SIGNES CLINIQUES

Le kwashiorkor apparaît chez l'enfant dans les semaines ou les mois qui suivent le sevrage, en général à l'âge de 18 à 30 mois. Les premiers symptômes sont des troubles digestifs : diarrhée opiniâtre, anorexie, vomissements. L'œdème apparaît alors, bientôt suivi de signes cutanéomuqueux.

1) Œdème et muscles striés.

L'œdème constitue l'élément principal du diagnostic de ce type de malnutrition; il s'agit d'un œdème de type carentiel, non douloureux, ferme, mais gardant cependant l'empreinte du doigt. Localisé dans certains cas aux pieds et aux chevilles qui enflent légèrement, il peut cependant s'aggraver et s'étendre aux jambes, aux mains, à la face et au ventre. L'importance de cet œdème ne permet pas de conclure de la

gravité du cas, ni du taux d'abaissement de la sérum albumine. D'ailleurs, l'œdème n'est pas spécifique de cette maladie : il existe d'autres causes pouvant engendrer des cas d'œdèmes chez les enfants en bas âge dans les régions tropicales, en particulier certaines maladies rénales (BEN-GOA & Coll., 1959).

On observe également une certaine atrophie musculaire et une perte des graisses sous-cutanées. VAN BOGAERT & Coll. (1962), en étudiant les muscles striés d'enfants atteints de kwashiorkor, du point de vue histologique, ont observé des lésions au niveau des fibres musculaires. Ces lésions se présentent sous forme d'une transformation spumeuse du sarcoplasme ou d'une condensation de ce même sarcoplasme avec apparition entre le sarcolemme et celui-ci d'un halo vide. Certaines fibres deviennent filiformes, d'autres se désagrègent en sorte que la gaine de sarcolemme renferme des fragments de sarcoplasme. Au niveau des cloisons conjonctives entourant les faisceaux de fibres musculaires (endomysium) apparaît de l'œdème. A un stade plus avancé, ces cloisons se sclérosent, de fines résilles conjonctives apparaissent entre les faisceaux partant des capillaires autour desquels on voit parfois apparaître des colliers de lymphocytes. Ces lésions semblent avoir une signification particulière dans le kwashiorkor car dans les autres cas d'œdème, elles ne sont pas aussi étendues ni aussi graves.

PLATT & Coll. (1964) ont fait des constatations analogues sur des Porcs soumis à un régime déficient en protéines et en calories. Par contre, MONTGOMERY & Coll. (1964), en soumettant des poussins à une sévère sous-alimentation, n'ont observé qu'une augmentation relative du tissu conjonctif endomysial; ils n'ont pas observé de diminution du diamètre des fibres, ni de dégénérescence de celles-ci.

Des études biochimiques faites sur des muscles de Porcs soumis à un régime pauvre en protéines et en calories (PLATT & Coll., 1964) et sur ceux d'enfants souffrant de carence protéique (WATERLOW & MENDES, 1957; SMITH & WATERLOW, 1960), font ressortir un abaissement de la concentration en potassium, alors que la concentration en sodium croît légèrement. On assiste également à une accumulation d'eau et de graisses dans les muscles de Porcs soumis à un régime pauvre en protéines, accumulation qui est encore plus nette si on ajoute des glucides supplémentaires à la ration; le glycogène, par contre, ne subit pas de variation (PLATT & Coll., 1964).

METCOFF & Coll. (1960) ont étudié en détail les variations de concentration de certains ions dans les muscles d'enfants souffrant de kwashiorkor, et l'influence de ces variations sur certains composés du métabolisme intermédiaire; ces ions interviennent en effet comme activateurs dans de nombreuses réactions enzymatiques. La concentration en sodium ainsi que le volume d'eau augmentent à l'intérieur de la cellule. Ce gonflement cellulaire conduit à une réduction de la concentration des ions intracellulaires essentiels : on assiste en effet à une réduction significative du potassium et du magnésium intracellulaires ainsi que des phosphates inorganique et organique. A noter cependant qu'à la mort de l'enfant, il y a accumulation du phosphate inorganique et réduction du phosphate organique.

Ces modifications ioniques ont des répercussions sur les composés du métabolisme intermédiaire : ainsi il y a diminution de la concentration en acide pyruvique, l'ion potassium intervenant dans la réaction de déphosphorylation de l'acide phosphoénolpyruvique en acide pyruvique. Les taux en acide α -cétoglutarique et en acide lactique augmentent très légèrement; ces variations ne sont cependant pas très significatives. Elles le deviennent par contre au moment de la mort : on constate alors une décroissance du taux d'acide α -cétoglutarique alors que celui de l'acide lactique croît très nettement.

METCOFF & Coll. (1960) ont également constaté que l'activité de la glutamate déshydrogénase est extrêmement faible dans les muscles d'enfants souffrant de kwashiorkor. Chez les Rats carencés en protéines, les activités de certains enzymes musculaires - cytochrome oxydase, succinate cytochrome c réductase, NADH cytochrome c réductase, aldolase-, rapportées au mg d'azote, ou au poids de tissu frais pour l'aldolase, sont réduites de 10 à 20% par rapport aux activités correspondant aux Rats témoins (WAINIO & Coll., 1959).

La perte en protéines musculaires est importante dans le kwashiorkor. WATERLOW & MENDES (1957), en pratiquant des biopsies de muscles pectoraux sur des enfants atteints de kwashiorkor, avant et après traitement, ont observé que le rapport azote non collagène sur P-ADN augmente de 45%. En supposant que le muscle pectoral est représentatif de la musculature dans son ensemble, cette valeur donne une estimation minima de l'augmentation de la masse musculaire; cependant celle-ci est probablement supérieure à 45%, s'il y a formation, comme il est probable, de nouvelles protéines et de nouvel ADN. Durant cette même période le poids corporel de son côté n'augmente que de 29%. Cette divergence peut s'expliquer en supposant que durant la guérison, le gain de protéines tissulaires est partiellement masqué par une perte d'eau et de graisses.

En soumettant des jeunes Rats à un régime faible en protéines (6,4%), MENDES & WATERLOW (1958) ont constaté une importante réduction de la fraction azote non collagène, donc des protéines sarcoplasmiques, le collagène de son côté subissant une nette augmentation : la réduction du rapport azote sur ADN est donc uniquement liée aux protéines cellulaires.

Dans le marasme, l'œdème n'apparaît pas : par contre, l'atrophie musculaire atteint un stade extrême et les graisses sous-cutanées disparaissent presque entièrement.

2) Peau et Phanères.

a) Peau

Les signes cutanés sont après l'œdème les plus évidents. Il s'agit essentiellement d'une disparition de la pigmentation, bien visible sur l'épiderme noir, suivie de l'apparition de zones d'hyperpigmentation, placards ou taches de dimensions variables, siègeant de préférence aux points de pression : coudes, genoux, région fessière et surtout face externe des membres inférieurs. En même temps, il y a hyperké-

ratose ou parakératose et l'épiderme desquame. Dans les formes aiguës, il se décolle et s'arrache laissant à nu de larges plaques de derme suintant mais ne s'infectant pas. Dans les formes explosives, l'œdème décolle l'épiderme et crée des bulles qui s'ulcèrent. Enfin, dans les formes lentes, ou bien la desquamation assez importante, permet cependant la reconstitution des tissus de sorte que la peau sous-jacente apparaît simplement dépigmentée, ou bien la peau peut apparaître crevassée dessinant une mosaïque comparable à une peau de Crapaud. Ces lésions de la peau font penser à celles observées dans la pellagre, mais elles ne sont pas limitées aux zones exposées à la lumière du soleil. (SCRIMSHAW & Coll., 1957).

RANGAM & Coll. (1962) ont étudié la peau d'enfants atteints de kwashiorkor du point de vue histologique : ils ont observé d'une part une diminution marquée de l'épaisseur de l'épiderme, d'autre part des zones présentant une hyperkératose ou une parakératose; la couche cornée est réduite ou absente. Au niveau du derme, l'œdème provoque une séparation et une fragmentation des fibres collagènes; les glandes sudoripares et sébacées sont moins nombreuses que dans la peau normale et on assiste souvent à une infiltration d'histiocytes. Des études histologiques faites sur la peau de Porcs soumis à des régimes pauvres en protéines ont abouti aux mêmes constatations (GODWIN - 1960). Ces lésions deviennent d'ailleurs plus importantes si on ajoute des glucides à la ration : l'épiderme est alors souvent réduit à l'épaisseur d'une cellule.

PLATT & FRANKUL (1962) émettent l'hypothèse que l'hyperkératinisation serait due à une déficience en zinc; ils ont constaté en effet chez les Porcs carencés en protéines une diminution de la concentration du zinc dans le sérum et une régression dans le transport du zinc liée à l'abaissement des protéines sériques. A noter qu'une déficience en zinc peut provoquer une parakératose (UNDERWOOD, 1959).

RANGAM & Coll. (1962) ont également étudié la peau dans le kwashiorkor du point de vue histochimique; ils ont observé une diminution importante des nucléoprotéines totales, la diminution du taux en ARN étant plus prononcée que celle de l'ADN, une augmentation de la phosphatase alcaline et une diminution significative de la concentration en vitamine C.

Chez les Porcs soumis à un régime pauvre en protéines (état semblable au marasme) il y a augmentation de l'eau et diminution des graisses dans la peau; par contre, si on ajoute à la ration des glucides en excès (état semblable au kwashiorkor) l'eau augmente davantage et les graisses augmentent elles aussi. (HEARD & Coll., 1958).

b) Cheveux

Les modifications dans les cheveux constituent également un caractère clinique très intéressant chez les enfants atteints de kwashiorkor. Dans tous les cas l'implantation du cheveu est atteint de sorte qu'il tombe spontanément ou bien peut être arraché par une très légère

traction. Parmi les autres modifications morphologiques, nous pouvons noter l'aspect sec du cheveu, sa fragilité et la diminution appréciable de son diamètre. Les cheveux d'enfants africains perdent leur aspect crépu très serré : les boucles deviennent lâches ou disparaissent complètement. Il doit être possible d'associer cette dernière modification à la diminution de la concentration en cystine dans les cheveux. (CLOSE, 1958).

La coloration des cheveux peut également être altérée; ceci apparaît surtout et d'une façon régulière chez les enfants africains. En effet, dans les autres populations, en Amérique Latine, aux Indes par exemple, ce caractère est beaucoup plus variable, et même dans de nombreux cas, on n'observe aucune modification dans la coloration des cheveux. Nous envisagerons donc ici spécialement le cas des enfants africains; chez ceux-ci on constate un passage de la teinte normale noire à une teinte brun-rougeâtre, et même parfois à une teinte blonde ou grise.

Quand les périodes de sous-alimentation protéique alternent avec des périodes de rationnement alimentaire relativement satisfaisantes, il apparaît des bandes de dépigmentation dans la chevelure. (SCRIMSHAW & BEHAR, 1961). Cette dépigmentation peut être liée à une baisse de la concentration en cuivre dans les cheveux. Mc DONALD & WARREN (1961) ainsi que d'autres auteurs ont constaté que chez les enfants souffrant de kwashiorkor, la concentration en cuivre est diminuée; pour LEA & LUTTRELL (1965) par contre, le kwashiorkor n'est pas nécessairement accompagné d'une réduction du taux de cuivre dans les cheveux.

Il ressort des travaux de CLOSE (1958) et de NARASINGA RAO & GOPALAN (1957) que la concentration en cystine des cheveux chez les enfants atteints de kwashiorkor est plus faible que chez les enfants normaux; pour les autres acides aminés ils n'ont pas observé de variation. Cependant, il n'y a pas de corrélation entre le taux de cystine et la dépigmentation des cheveux; de même l'état de décoloration n'est pas nécessairement fonction du degré de sous-alimentation protéique. Il apparaît donc que le taux de cystine dans les cheveux est un meilleur indice permettant de définir la sévérité de la malnutrition protéique que la décoloration des cheveux. A signaler cependant que JELLIFFE (1955) n'avait pas observé d'abaissement de la teneur en cystine des cheveux. PLATT & NAGCHAUDHURI (1954) ont étudié les pigments provenant respectivement de cheveux noirs de sujets normaux et de cheveux rougeâtres de sujets atteints de kwashiorkor; ces deux pigments présentent des caractéristiques chromatographiques et spectrographiques différentes. Le pigment des cheveux noirs est facilement converti par oxydation en un produit ayant les mêmes caractéristiques chromatographiques et spectrographiques que le pigment provenant des cheveux rouges.

En conséquence, on peut conclure que les régimes déficients en protéines provoquent, non seulement une réaction oxydative dans le pigment du cheveu, mais aussi une réduction de la teneur en cystine dans le cheveu noir.

c) Ongles

On observe également des modifications au niveau des ongles. GODWIN (1959) a montré que la vitesse de croissance des griffes décroît chez le Rat soumis à un régime pauvre en protéines.

3) Les Os

Si le retard de la croissance est très net dans le marasme, il l'est moins dans le kwashiorkor (SCRIMSHAW & BEHAR, 1961). Chez les sujets jeunes soumis à une carence en protéines, les os continuent à croître en longueur, cette croissance s'effectuant néanmoins plus lentement.

HEARD & Coll. (1958) ont constaté que les os de jeunes porcs, maintenus à un régime pauvre en protéines, présentent une vitesse de croissance réduite; cette réduction s'accroît si on ajoute des glucides au régime. Ainsi l'augmentation en longueur des radius pour une période de 14 jours, de 7 cm pour le Porc normal passe respectivement à 1,3 cm et à 0,8 cm. La taille des os est donc inférieure à la normale; ceci est bien visible dans les vertèbres de ces mêmes porcs (PLATT & STEWART, 1962 b) : ces vertèbres vues en section transversale, apparaissent nettement plus petites que les vertèbres d'animaux témoins, mais la surface du trou vertébral est demeuré sensiblement constante. A la mort de ces animaux, l'espace compris entre la vertèbre et la moelle épinière apparaît souvent réduit, mais dans aucun cas, on peut mettre en évidence les effets de pression, observables dans une déficience en vitamine A (PLATT & Coll., 1964).

Des radiographies d'os longs de porcs soumis à un régime pauvre en protéines révèlent, d'une part une raréfaction du tissu osseux spécialement dans les épiphyses, d'autre part une trabéculatation transverse; pas moins d'une dizaine de trabécules ont été observées dans l'épiphyse de radius (PLATT & STEWART, 1962 b). GARN & Coll. (1964) ont fait des observations analogues sur des enfants souffrant de malnutrition protéique au Guatemala. Des radiographies font ressortir une insuffisance du tissu osseux compact; cette insuffisance va en s'aggravant du kwashiorkor au marasme.

Un examen histologique des os longs chez les porcs sous-alimentés en protéines fait apparaître des modifications très importantes dans les zones de prolifération et de maturation du cartilage; ces zones sont souvent réduites à la moitié ou même à moins de la moitié de leur épaisseur normale, et dans des cas sévères, la zone de maturation du cartilage est quelquefois absente. Les cellules de cartilage sont même souvent très petites. Cette diminution de la vitesse de prolifération et d'hyper-trophie du cartilage est associée à une ossification qui s'effectue davantage dans le sens transversal que dans le sens longitudinal habituel, d'où apparition de ces trabécules transverses; il y a en effet réduction de l'activité des ostéoblastes alors que celle des ostéoclastes l'est moins. La moelle, de son côté est œdémateuse et à peu près dépourvue de cellules (STEWART & PLATT, 1961; PLATT & STEWART, 1962 b).

Des observations histologiques faites, sur les côtes d'enfants africains mourant de kwashiorkor (HIGGINSON, 1954), sur les os de Mammifères tels que Chiens ou Rats, soumis à des carences partielles en protéines (PLATT & Coll., 1964), enfin sur les os de poussins soumis à une sévère sous-alimentation (PRATT & Mc CANCE, 1960) ont abouti à des constatations similaires.

L'addition de calcium (650 mg par jour sous forme de CaCO_3) à la ration pauvre en protéines des Porcs, n'empêche pas le retard de la croissance, ni la raréfaction du tissu osseux, ni le développement des trabécules transverses.

PLATT & STEWART (1962 b), en évaluant la teneur totale en cendres, donc en éléments minéraux des fémurs de Porcs soumis à un régime pauvre en protéines, ont constaté que celle-ci était nettement inférieure à la teneur en cendres d'animaux nourris normalement. Par contre, le rapport A/R (poids des cendres de l'os/poids de l'os dépourvu de graisses - poids des cendres) ne varie pas avec la valeur protéique du régime alimentaire. WALKER & ARVIDSSON (1954) ont déterminé les teneurs en cendres, calcium et phosphore des cinquièmes côtes d'enfants africains atteints de kwashiorkor, en les rapportant au poids soit des côtes séchées et dégraissées, soit des côtes séchées, dégraissées et débarrassées de la moelle. Ils n'ont pas observé de corrélation entre l'état nutritionnel et la composition des os; en d'autres termes, chez ces enfants, les teneurs en cendres, calcium et phosphore sont les mêmes que chez les enfants sains africains ou européens.

La carence protéique prolongée chez le Rat adulte (FONTAINE & Coll., 1950) entraîne une diminution du poids des os, donc un phénomène d'ostéolyse qui se traduit sur le plan biochimique par une réduction parallèle de la matrice protéique et des constituants minéraux. Ainsi le tissu osseux restant garde des teneurs normales en phosphore, calcium et azote et un indice de minéralisation P/N inchangé. Ces mêmes auteurs ont également observé une diminution manifeste de l'activité de la phosphomonoestérase alcaline des os au cours du jeûne protéique chez le Rat adulte.

4) Les Yeux

Les enfants atteints de kwashiorkor présentent souvent des troubles de la vue; ceux-ci sont attribuables soit à l'abaissement de la teneur en vitamine A, effet secondaire de la carence protéique, soit à la carence en protéines proprement dite. Chez de jeunes rats soumis à un régime pauvre en protéines, Mc LAREN (1957) a observé des modifications au niveau des yeux : on n'observe pas d'anomalies externes, mais une étude histologique de la section de l'œil fait apparaître une modification importante dans le cristallin; il y a absence totale de formation normale de fibres et l'épithélium est formé d'une masse désordonnée de cellules irrégulières. Mais, fait beaucoup plus frappant, chez le Rat soumis à un régime renfermant 4% de protéines, on assiste à une diminution importante de la teneur en groupements-SH dans le cristallin (BAGCHI, 1957). Un apport supplémentaire au régime pauvre en protéines de méthionine ou de cystéine se traduit par une augmentation de la te-

neur en groupements-SH aboutissant à la valeur obtenue chez les témoins. Par contre, si on injecte par voie intrapéritonéale de la méthionine sulphoximine, qui est un antimétabolite de la méthionine, à des rats soumis au régime contenant 4% de protéines, la teneur en groupements-SH du cristallin est encore réduite de sorte qu'au bout d'un certain temps la quantité qui subsiste est tellement faible qu'il est impossible de la doser. A cette réduction des groupements-SH est associée un développement de l'opacité du cristallin qui aboutit à une cataracte; les composés à groupement-SH jouent un rôle important dans le maintien de la transparence du cristallin.

II) SANG ET APPAREIL CIRCULATOIRE.

1) Anémie et Leucopénie

L'anémie apparaît sous des formes variées dans presque tous les cas de kwashiorkor. L'anémie microcytaire hypochrome, qui est souvent liée à une infestation d'Ankylostome, peut dans certains cas être le résultat d'un apport alimentaire déficient en fer. (TROWELL & SIMPKISS, 1957).

ADAMS & SCRAGG (1962) ont observé des anémies mégalo-blastiques attribuables à une déficience en acide folique. Ce même type d'anémie peut également être dû à une déficience en vitamine E. (MAJAJ & Coll., 1963; SANDSTEAD & Coll., 1965 b).

Enfin l'anémie qui apparaît le plus communément et que l'on peut considérer comme liée directement à une déficience protéique est du type normochrome, normocytaire. Ce type d'anémie a été observé par VITERI & Coll. (1964) dans le Guatemala chez des enfants atteints de kwashiorkor; dans ces régions dépourvues d'Ankylostome, les déficiences en fer et en acide folique sont quasiment inexistantes. C'est une anémie modérée; le nombre de globules rouges est de 3 millions, le taux d'hémoglobine de 10 g/100 ml et le volume globulaire moyen compris entre 90 et 110 μ^3 . Mc DOUGALL (1960) a également observé des cas d'anémie normochrome normocytaire chez des enfants du Kenya atteints de kwashiorkor ou de marasme; dans le kwashiorkor, le taux d'hémoglobine et le nombre de globules rouges sont plus faibles que dans les cas de marasme. Dans ces deux types de maladies, la moelle osseuse est erythronormoblastique et aucunement mégalo-blastique. Cependant le rapport entre les cellules myéloblastiques donnant naissance aux leucocytes polynucléaires et les cellules érythroblastiques donnant naissance aux hématies est plus élevé dans le marasme que dans le kwashiorkor.

SOOD & Coll. (1965) sont parvenus à provoquer chez le Singe Rhesus un syndrome très voisin du kwashiorkor humain en leur administrant par sonde stomacale un régime déficient uniquement en protéines, tous les autres constituants étant fournis en quantités adéquates. Ils ont pu observer ainsi que la déficience protéique entraînait uniquement une anémie normocytaire normochrome : abaissement du taux d'hémoglobine et du nombre des globules rouges, la moelle

étant normoblastique. PLATT & Coll. (1964) ont observé par contre une tendance vers une anémie microcytaire hypochrome chez les Porcs déficients en protéines, alors qu'ASCHKENASY (1957) constate une anémie franchement microcytaire hypochrome chez les Rats soumis à un jeûne protéique.

En règle générale, chez les enfants atteints de kwashiorkor, le nombre des globules blancs est plus faible que chez les enfants normaux de même âge (Mc DOUGALL, 1960). Cette leucopénie est souvent très prononcée chez les Rats soumis à un jeûne protéique (ASCHKENASY, 1957) : elle se traduit par une disparition totale des polynucléaires éosinophiles. Dans la phase finale de cette carence, le nombre des lymphocytes à son tour décroît : cette lymphopénie est liée à une atrophie précoce des organes lymphoïdes, thymus et rate.

2) Matières minérales

a) Fer

La carence protéique engendre souvent une déficience en fer. Le traitement des anémies par le fer dans de nombreux cas n'est pas suffisant pour permettre une normalisation du taux d'hémoglobine si l'on ne fournit en supplément une certaine quantité de protéines. (FOY & KONDI, 1957). Ces auteurs ont donc montré ainsi qu'une carence en protéines peut être responsable d'une anémie ferriprive. Ceci a d'ailleurs été confirmé par les travaux de PLATT & Coll. (1964) sur le Porc soumis à une carence partielle en protéines avec ou sans supplément de glucides : on y observe une réduction importante de la concentration en hémoglobine, concentration que l'on peut à nouveau ramener à la normale en ajoutant au régime des protéines supplémentaires sans pour autant modifier l'apport de fer dans la nourriture.

LAHEY & Coll. (1958) ont observé chez des enfants d'Amérique centrale atteints de kwashiorkor, des taux faibles en fer sérique. Cette baisse du fer sérique, observée également par SOOD & Coll. (1965) chez le Singe Rhesus soumis à un régime déficient en protéines, peut être liée à une diminution de l'absorption au niveau du duodénum. Cette baisse de l'absorption a été mise en évidence, d'une part par SOOD & Coll. (1965) sur le Singe Rhesus à l'aide du ⁵⁹ Fe, d'autre part par KLAVINS & Coll. (1962) sur des rats au jeûne protéique; ces derniers ont constaté une baisse de l'absorption quand le régime auquel on soumettait les rats renfermait moins de 15% de protéines. D'ailleurs MOORE (1959-60) considère que l'absorption du fer au niveau de la paroi duodénale s'effectue plus lentement dans le cas de stéatorrhées ou de diarrhées, deux phénomènes qui s'observent presque toujours dans les cas de kwashiorkor.

La concentration réduite de la transferrine, β -globuline transporteur du fer dans le sérum, constatée dans le kwashiorkor (LAHEY & Coll., 1958) ainsi que dans la carence protéique chez le Singe Rhesus (SOOD & Coll., 1965) est également responsable de la valeur faible en fer sérique. Une diminution de la synthèse de cette β -globuline (EDOZIEN, 1960) est à l'origine de la baisse du pouvoir sidéropexique obser-

vée autant dans le kwashiorkor (LAHEY & Coll., 1958; ADAMS & SCRAGG, 1965) que dans les carences expérimentales sur le Singe Rhesus (SOOD & Coll., 1965). Chez les Porcs déficients en protéines, PLATT & Coll. (1964) notent également une forte réduction de la transferrine; en redonnant maintenant à ces Porcs des régimes renfermant des taux croissants de protéines, on assiste à une augmentation de la transferrine et à une hausse de la concentration en fer sérique (AL-RABII, cité par PLATT & Coll., 1964); en même temps la quantité de fer dans le foie est réduite (PLATT & FRANKUL, 1962). La corrélation entre l'augmentation de la transferrine et du fer sérique et l'abaissement du fer hépatique laisse supposer que la mobilisation et le transport du fer sont subordonnés aux protéines. BETHARD & WISSLER (1953) avaient également montré que la carence protéique chez le Rat altérait le métabolisme du fer : il y a en effet réduction de l'incorporation du fer radio-actif dans l'hémoglobine et augmentation de la réserve en fer dans le foie.

b) Cuivre

Chez les enfants atteints de kwashiorkor, le taux de cuivre sérique est variable; il est cependant souvent inférieur à la normale (LAHEY & Coll., 1958; SANDSTEAD & Coll., 1965 a; SCRIMSHAW & BEHAR, 1961). Cette baisse ne semble cependant pas liée à la concentration en céruloplasmine, α_2 -globuline transporteur du cuivre dans le sérum, cette dernière ne subissant pas de variation au cours d'une carence en protéines (LAHEY & Coll., 1958). On observe également une diminution importante de la concentration en cuivre dans le foie (Mc DONALD & WARREN, 1961).

c) Zinc

PLATT & FRANKUL (1962) ont montré que la concentration en zinc dans le sérum ainsi que dans le foie est réduite chez les Porcs soumis à un régime pauvre en protéines, supplémenté ou non en glucides. Etant donné qu'un tiers du zinc contenu dans le sérum est solidement lié à la globuline et que le reste est labilement lié à l'albumine (VIKBLADH, 1951), la réduction de ces deux fractions protéiques au cours de la carence peut être à l'origine de ces taux faibles de zinc dans le sang. Dans des cas de kwashiorkor en Egypte, SANDSTEAD & Coll. (1965 a) ont constaté que la concentration en zinc du plasma et des globules rouges est réduite; cette déficience en zinc a un effet inhibiteur sur la croissance.

d) Magnésium

MONTGOMERY (1960 a) et METCOFF & Coll. (1960) ont constaté dans les cas de kwashiorkor une déficience importante en magnésium, spécialement au niveau des muscles. La concentration en magnésium dans le plasma et dans les globules rouges demeure cependant normale. MONTGOMERY (1960 b) ainsi que BACK & Coll. (1962) ont néanmoins observé dans certains cas graves une baisse du taux en magnésium sérique entraînant des perturbations neurologiques: rigidité musculaire, contractions et convulsions.

e) *Potassium et Sodium*

La déficience en potassium, souvent très sévère, est une caractéristique biochimique importante du kwashiorkor et elle est une conséquence directe de la carence en protéines; elle a été mise en évidence à l'aide de mesures d'équilibre (HANSEN & BROCK, 1954; HANSEN & JENKINSON, 1956), en dosant le potassium dans les muscles (METCOFF & Coll., 1960) et en mesurant le potassium total échangeable à l'aide de l'isotope ^{42}K (SMITH & WATERLOW, 1960). La concentration en potassium du sérum est faible (HANSEN & BROCK, 1954; GOLDIS, 1959), en particulier si le kwashiorkor est accompagné de diarrhées importantes. Au cours de la guérison, on assiste à une rétention en potassium, maxima dans les premiers jours du traitement, et à une élimination importante de NaCl et d'eau dans les urines, ce qui entraîne une disparition de l'œdème. (HANSEN & JENKINSON, 1956). Dans les cas graves de kwashiorkor, on observe également une baisse de la concentration en potassium du liquide cérébrospinal (GOLDIS, 1959). A noter que dans le marasme, cette déficience en potassium est beaucoup moins importante (GARROW, 1965).

f) *Calcium et Phosphore*

De nombreux auteurs ont constaté que les enfants atteints de kwashiorkor présentent une hypophosphatémie et une hypocalcémie (VITERI & Coll., 1964). La concentration faible en calcium sérique (EDOZIEN, 1960) est probablement une conséquence de l'hypoalbuminémie, car GUTMAN en 1954 (cité par PLATT & Coll., 1964) considère qu'il existe une relation étroite entre la concentration en albumine sérique et la protéine à laquelle est lié le calcium. D'après SCRIMSHAW & BEHAR (1961), il ne semble pas que le rapport Ca/P soit modifié dans le kwashiorkor, pas plus que l'on observe une hypocalcification dans les os.

3) *Vitamines*

A) *Vitamines liposolubles*

a) *Vitamine A*

Le fait que les enfants souffrant de kwashiorkor présentent des signes cliniques tels que xérophtalmie, attribuables à une déficience en vitamine A, laisse supposer qu'une carence en protéines peut entraîner une certaine modification dans le métabolisme de cette vitamine.

Différentes observations récentes permettent de supposer que l'absorption de la vitamine A au niveau de l'intestin grêle dépend probablement de la teneur en protéines du régime alimentaire. Ainsi ARROYAVE & Coll. (1959 b) ont montré que les enfants atteints de kwashiorkor ne parviennent pas à absorber normalement la vitamine A quand on la leur administre par voie orale sous forme de palmitate; par contre, si on leur donne pendant plusieurs jours du lait écrémé en poudre, on constate alors, qu'en administrant une dose élevée de palmitate de vitamine A, la teneur du sérum en vitamine A augmente très nettement ce qui laisse supposer que l'absorption se fait normalement. DESHMUKH & Coll. (1964) en déterminant les teneurs en vitamine A

dans les parois intestinales (muqueuses et muscles) de Rats soumis à des régimes renfermant respectivement 5, 10 et 20% de caséine après administration d'une forte dose d'acétate de vitamine A, ont montré que l'efficacité d'absorption de cette vitamine est directement liée au taux de protéines dans la ration. Par ailleurs, les activités des enzymes du pancréas et de l'intestin grêle intervenant dans l'hydrolyse de l'acétate de vitamine A et dans l'estérification de la vitamine A, sont nettement diminuées chez les Rats recevant 5% de caséine dans leur régime. Si ces rats reçoivent maintenant par voie orale, non plus la vitamine A mais son précurseur, le β carotène, MATHEWS & BEATON (1963) ont montré que la conversion du β carotène en vitamine A, qui se fait au niveau de l'intestin grêle, est fortement diminuée. A noter que TROWELL & Coll. (1954) ont constaté que la concentration en caroténoïdes dans le plasma sanguin chez des enfants atteints de kwashiorkor est plus faible que chez les enfants normaux.

Cependant ARROYAVE & Coll. (1959 a) ont eu des doutes au sujet de l'importance exclusive de l'absorption. D'après les travaux effectués sur des enfants atteints de kwashiorkor ou sur des animaux de laboratoire soumis à une carence protéique, nous savons que la teneur en vitamine A du plasma est faible.

Or, ARROYAVE & Coll. (1959 a) distinguent deux catégories parmi les enfants atteints de kwashiorkor : les premiers possèdent une réserve élevée en vitamine A dans le foie alors que la réserve en vitamine A hépatique des seconds est faible. Si on donne à ces enfants du lait écrémé pendant une dizaine de jours, on constate chez les premiers une augmentation de la concentration sérique en vitamine A, alors qu'il n'y a pas de variation chez les seconds. Il semble donc que l'absorption de la vitamine A ne soit pas seule en cause, comme ces auteurs le laissaient supposer dans leur publication précédente (ARROYAVE et Coll., 1959 b). A noter que l'absorption de la vitamine A est normale dans les cas de marasme (VITERI & Coll., 1964).

Le taux de protéines alimentaires aurait-il une action sur la réserve en vitamine A du foie ? Chez les Porcs soumis à un régime pauvre ou riche en protéines, le taux de vitamine A hépatique est identique (FRIEND & Coll., 1960). Ces mêmes auteurs ont constaté cependant une augmentation très nette de ce taux en donnant par voie orale des fortes doses de vitamine A à des Porcs carencés en protéines. Par contre, chez ces mêmes Porcs, la quantité de vitamine A stockée dans le foie est nettement moindre si les caroténoïdes constituent la source en vitamine A. Chez le Rat, le taux de protéines de la ration ne semble pas avoir d'influence sur le stockage de la vitamine A au niveau du foie; en effet, ces animaux sont capables d'accumuler d'abondantes quantités de vitamine A, mêmes supérieures à la normale, d'une part en absence totale de protéines alimentaires (RECHCIGL & Coll., 1959 a), d'autre part en présence d'un déséquilibre en acides aminés dans la ration alimentaire (RECHCIGL & Coll., 1959 b). MURRAY (1961) tout en se ralliant à l'idée de RECHCIGL & Coll. (1959 a), confirmée par MATHEWS & BEATON (1963), note que les rats carencés en protéines ne présentent pas une teneur en vitamine A hépatique supérieure à celle des Rats

normaux. Selon DESHMUKH & Coll. (1964), cette forte réserve en vitamine A dans le foie peut s'expliquer par le fait que les rats, soumis à un régime pauvre en protéines, consomment moins de vitamine A par suite d'une diminution de la croissance et d'une diminution des activités des enzymes intervenant dans le métabolisme de cette vitamine.

Le stockage de la vitamine A au niveau du foie ne dépend donc pas de la teneur en protéines de la ration alimentaire; néanmoins cette dernière joue un rôle important dans l'utilisation par l'organisme de la vitamine A, qu'il s'agisse de sa libération à partir du foie ou de sa concentration dans le sérum sanguin. Selon KRINSKY & Coll. (1958), la forme ester de la vitamine A est associée dans le sang à une lipoprotéine, alors que la forme alcool libre est liée à une autre protéine qui, si on pratique un fractionnement, se retrouve avec l'albumine. La vitamine A étant associée à une protéine qui joue le rôle de transporteur, il résulte que les taux faibles en vitamine A sérique peuvent s'expliquer chez les Porcs carencés en protéines par le fait d'une diminution de la concentration des transporteurs protéiques dans le sérum. (FRIEND & Coll., 1961). Dans une note préliminaire, ces mêmes auteurs (FRIEND & Coll., 1960) ont mis en évidence une corrélation entre les concentrations en vitamine A et en albumine dans le sérum de Porc. Une forte dose de vitamine A donnée par voie orale à des porcs déficients en protéines, n'a pas d'effet sur la teneur en vitamine A du sérum; par contre, si on augmente le taux de protéines dans la ration, on assiste à une augmentation de la teneur à la fois en albumine et en vitamine A du sérum sanguin. ARROYAVE & Coll. (1961 a) ont observé cette même corrélation chez des enfants souffrant de kwashiorkor.

Reprenons à nouveau l'expérience d'ARROYAVE & Coll. (1959 a): si le foie présente initialement une réserve importante en vitamine A, la fourniture d'une alimentation riche en protéines, le lait en l'occurrence, se traduit par une augmentation marquée de l'albumine et de la vitamine A dans le sérum, ce qui coïncide avec une diminution de la teneur en vitamine A du tissu hépatique. Les expériences de RECHCIGL & Coll. (1962) sur le Rat montrent que la baisse du stock de vitamine A hépatique dépend à la fois de la quantité et de la qualité des protéines alimentaires: en augmentant le taux de protéines dans la ration on assiste à une diminution progressive de la quantité de vitamine A dans le foie et à une augmentation de la concentration en vitamine A dans les reins. La qualité des protéines joue également un rôle important: des rats recevant du gluten ou de la zéine présentent des teneurs en vitamine A plus élevées dans le foie que des rats nourris de caséine alors que la teneur en vitamine A des reins est plus élevée chez les rats recevant de la caséine que chez les rats recevant du gluten ou de la zéine. Donc, plus la teneur en protéines de la ration est élevée et se rapproche de la normale, plus la quantité de vitamine A apparaissant dans les reins est élevée. Il existe donc une relation étroite entre le taux de protéines alimentaires et l'utilisation de la vitamine A par l'organisme (ESH & Coll., 1960). DESHMUKH & Coll. (1964) ont d'ailleurs montré que l'activité de la rétinène-oxydase du foie est nettement diminuée chez les rats au jeûne protéique.

Ainsi il apparaît que la déficience en vitamine A causée par la malnutrition protéique soit due, d'une part à la concentration faible en vitamine A plasmatique, d'autre part à la faible activité de la rétinène-oxydase, enzyme du foie oxydant le rétinène en vitamine A à fonction acide.

STOEWSAND & SCOTT (1961) ont montré que chez les Poussins, un régime riche en protéines provoquait un abaissement de la teneur en vitamine A dans le sang et le foie.

b) Autres vitamines

On n'a pas observé de déficience en vitamine D dans les cas de kwashiorkor (SCRIMSHAW & BEHAR, 1961).

Les concentrations en vitamine E sont anormalement faibles dans le plasma sanguin d'enfants souffrant de kwashiorkor (TROWELL & Coll., 1954); ceci semble dû à une baisse de la protéine, transporteur de la vitamine E dans le sang.

Enfin, on connaît peu de choses quant aux taux de vitamine K dans le kwashiorkor. Dans la majorité des cas, on assiste à une baisse significative du taux de prothrombine (MERSKEY & HANSEN, 1957), liée, semble-t-il, à une diminution de la concentration du facteur VII et du facteur X; dans certains cas, on note en plus, une déficience en prothrombine.

B) Vitamines hydrosolubles

a) Vitamine C

RANGAM & Coll. (1962) ont noté une réduction marquée de la concentration en acide ascorbique dans le sérum d'enfants atteints de kwashiorkor; cette réduction n'est cependant pas suffisante pour parler de déficience clinique (SCRIMSHAW & BEHAR, 1961).

b) Vitamines du groupe B

Dans le kwashiorkor, les concentrations des hématies, des leucocytes ainsi que du plasma en thiamine et en riboflavine sont souvent réduites (VITERI & Coll., 1964). Il ne semble pas y avoir de déficience en nicotinamide (SCRIMSHAW & BEHAR, 1961).

Les concentrations du sérum en acide folique sont variables (SATOSKAR & Coll., 1962), que nous nous adressions à des enfants atteints de marasme ou de kwashiorkor.

Chez les enfants marasmiques, la concentration du sérum en vitamine B₁₂ est normale; elle l'est également chez les enfants souffrant de kwashiorkor à l'exception de certains cas assez rares où elle est supérieure à la normale (Mc DOUGALL & ROSS, 1960). Cette forte concentration en vitamine B₁₂ sérique, observée également par SATOSKAR & Coll. (1962) aux Indes, semble liée à des détériorations hépatiques en particulier à des variations du taux des graisses.

THERON & Coll. (1961) ont observé une déficience en vitamine B₆ (pyridoxine) dans les cas de kwashiorkor. Celle-ci a pu être mise en évidence à l'aide de deux tests biochimiques : excrétion accrue d'acide xanthurénique après administration de tryptophanne, et faible excrétion d'acide 4-pyridoxique dans l'urine.

4) Protéines et acides aminés

a) Protéines sériques

Le kwashiorkor est caractérisé par une teneur extrêmement faible en protéines sériques, due essentiellement à une baisse importante de l'albumine. COHEN & HANSEN (1962) ont observé que le pool de l'albumine extravasculaire est plus fortement réduit que le pool de l'albumine intravasculaire. Des études faites sur des animaux de laboratoire confirment ces observations. PAYNE & DONE (1959) ont observé une réduction de l'albumine sérique chez des Porcs soumis à un régime déficient en protéines avec ou sans supplément de glucides : l'albumine extravasculaire subit une réduction plus importante que l'albumine intravasculaire de sorte que le rapport albumine extravasculaire/albumine intravasculaire tombe d'une valeur normale de 2,2 à 0,8 - 0,7. Cette baisse de l'albumine extravasculaire a également été mise en évidence par FREEMAN & GORDON (1964) sur des Rats au jeûne protéique. YUILE & Coll. (1955) avaient également constaté que la carence en protéines chez le Chien est accompagné d'une baisse de 10 à 40% des protéines plasmatiques totales circulantes et d'une chute plus importante (50-80%) des protéines extravasculaires-extra-cellulaires. Ces protéines du pool extravasculaire paraissent constituer une première ligne de défense durant la carence protéique; il semble qu'il y ait déplacement de protéines par plasmaphérèse du pool extravasculaire vers le pool intravasculaire.

Les mécanismes métaboliques agissant pour provoquer cette baisse d'albumine sont mal connus. En injectant de l'albumine marqué à l'¹³¹I, d'une part à des enfants souffrant de kwashiorkor, dont le taux d'albumine sérique est très faible, d'autre part à ces mêmes enfants en cours de guérison, quand la protéinémie est à nouveau normale, GITLIN & Coll. (1958) ont constaté que la période biologique de l'albumine était constante : l'hypoalbuminurie serait donc due à une diminution de la vitesse de synthèse et non à un catabolisme anormal de l'albumine.

La réponse métabolique des enfants à une privation en protéines semble donc totalement différente de ce que l'on observe chez les animaux inférieurs. Chez la Souris soumise à une carence en protéines, on assiste à une diminution de la synthèse de l'albumine, mais celle-ci est compensée par une augmentation significative de la période biologique de l'albumine : il y a donc baisse du catabolisme de l'albumine chez la Souris (GITLIN & JANEWAY, 1957), ce qui a également été observé chez le Rat carencé en protéines (FREEMAN & GORDON, 1964). PICOU & WATERLOW (1962) ont montré, en déterminant la vitesse de renouvellement de l'albumine d'après l'excrétion urinaire journalière d'¹³¹I que le catabolisme de l'albumine est abaissé chez les enfants souffrant de kwashiorkor. Ces résultats ont été confirmés par COHEN & HANSEN (1962); ces auteurs ont en effet observé un abaissement du catabolisme de l'albumine alors que la vitesse de synthèse est réduite de 2/3 par rapport à la normale. Les divergences entre les résultats de ces derniers auteurs et ceux de GITLIN & Coll. (1958) sont dues aux méthodes d'études.

Dans le kwashiorkor, la baisse relative de la concentration en albumine est nettement supérieure à celle de la concentration de la fraction globuline totale de sorte que le rapport albumine/globuline est nettement réduit. Toutefois, les différentes globulines ne réagissent pas de la même façon à l'égard d'une carence en protéines.

La concentration en α_1 -globuline est en général inférieure à la normale mais cette variation n'est pas significative. Pour l' α_2 -globuline, le pourcentage de baisse varie avec l'âge (EDOZIEN, 1960) : la baisse est plus importante chez les tout jeunes enfants où la concentration normale est d'ailleurs plus élevée que chez l'adulte; comparée donc à l'adulte, l' α_2 -globuline semble stable. VITERI & Coll. (1964) signalent néanmoins que les concentrations en α_1 - et α_2 -globulines augmentent légèrement.

Les β -globulines de leur côté subissent une certaine baisse que l'on observe également dans la carence expérimentale chez le Porc (PLATT & Coll., 1964), et le Chien (WANNEMACHER & Coll., 1963).

Enfin le taux de γ -globuline est variable; il est néanmoins fréquemment supérieur à la normale, en particulier dans le cas d'infection. La privation en protéines ne semble pas avoir d'effet sur la vitesse de renouvellement de la γ -globuline (VITERI & Coll., 1964 - kwashiorkor; GITLIN & JANEWAY, 1957 - chez la Souris; FREEMAN & GORDON, 1964 - chez le Rat). Dans les cas de kwashiorkor compliqués d'infection, par contre, le taux de synthèse de la γ -globuline est trois fois plus élevé que celui observé chez les enfants non atteints d'infection (COHEN & HANSEN, 1962).

Nous constatons donc que l'albumine et la β -globuline sont davantage affectés par la carence protéique que les α - ou les γ -globulines. EDOZIEN (1960) pense que les acides aminés soufrés pourraient être à l'origine de cette déficience. En effet, l'albumine et la β -globuline renferment plus d'acides aminés soufrés que les α - et γ -globulines. Or, ces acides aminés qui sont essentiellement fournis par les protéines animales dans la nourriture, font défaut dans les régimes engendrant le kwashiorkor. Le manque de ces acides aminés soufrés est donc un facteur limitant dans la synthèse de l'albumine et de la β -globuline.

ASCHKENASY & BENHAMOU (1950) ont constaté d'ailleurs chez le Rat qu'un apport supplémentaire de méthionine ou de cystine à un régime pauvre en protéines (4%) augmentait considérablement la protéinémie globale sans l'amener pour autant au niveau de la valeur de celle des rats non carencés : cette augmentation concerne essentiellement les fractions albumine et β -globuline.

La carence en protéines chez le Rat se traduit par une réduction significative de toutes les glycoprotéines du sérum à l'exception du polysaccharide albuminique (WEIMER & NISHIHARA, 1959).

A noter que dans les cas de marasme, même les plus sévères, la concentration de l'albumine sérique est égale ou légèrement inférieure à la concentration déterminée chez les enfants sains de même âge. (DONOSO & Coll., 1965); de même chez les Rats en inanition partielle, on n'observe pas de variations dans les concentrations en protéines totales et en albumine du sérum (WIDDOWSON & DICKERSON, 1966).

b) Acides aminés libres du sérum

Dans le kwashiorkor, la concentration totale en acides aminés libres du plasma est réduite de moitié par rapport à la normale (ARROYAVE & Coll., 1962); il n'existe cependant pas de relation entre cet abaissement de la concentration et la sévérité de la maladie. En étudiant les acides aminés individuellement, ARROYAVE & Coll. (1962) ont constaté que ce sont les acides aminés essentiels qui subissent les abaissements de concentration les plus importants, en particulier la valine, la leucine et l'isoleucine; la phénylalanine et la lysine, de leur côté, sont les moins touchés. Parmi les acides aminés non essentiels, la tyrosine subit la plus forte réduction, suivie de la cystine, de l'arginine et de l'alanine. Ces observations ont été confirmées par HOLT & Coll. (1963).

Partant de ces constatations, WHITEHEAD (1964 a) a mis au point une technique permettant de définir un rapport entre les acides aminés à peu près stables (glycine, sérine, glutamine, taurine) et les acides aminés particulièrement atteints par la déficience protéique (valine, leucine, isoleucine, méthionine). Ce rapport, dont la valeur moyenne est égale à 1,5 pour les enfants sains, atteint des valeurs allant de 4 à 20 chez les enfants souffrant de kwashiorkor. Pour les cas de marasme, par contre, ce rapport est légèrement supérieur à 2 (WIDOWSON & WHITEHEAD, 1966) : les variations de concentration des acides aminés plasmatiques sont donc nettement moins marquées dans le marasme que dans le kwashiorkor.

A l'aide du rapport défini par WHITEHEAD (1964 a), WIDOWSON & WHITEHEAD (1966) ont également étudié l'action d'une carence en protéines et d'une déficience en calories chez le Rat en croissance, sur les acides aminés du plasma. Ce rapport, de 1,6 pour le Rat normal, passe à 4,4 chez le Rat carencé en protéines et à 2,44 chez le Rat en inanition partielle.

RICHARDSON & Coll. (1965) ont étudié, de leur côté, la concentration en acides aminés du plasma chez les Porcs soumis à des régimes renfermant 0,15 et 30% de protéines. Certains acides aminés - acide glutamique, isoleucine, leucine, ornithine, thréonine, tyrosine et valine - sont affectés d'une façon significative par le taux de protéines dans la ration alimentaire, alors que d'autres - alanine, arginine, acide aspartique, glycine, histidine, lysine, méthionine, phénylalanine, proline et sérine - ne subissent pas de variation; la concentration des acides aminés de la première série augmente avec la concentration en protéines de la ration alimentaire.

Dans le kwashiorkor, on constate que le rapport des concentrations en certains acides aminés est perturbé. Ainsi le rapport tyrosine/phénylalanine subit une très forte chute, ce qui laisse supposer une déficience en phénylalanine hydroxylase. Il n'y a pas blocage complet de l'enzyme, comme dans la phénylcétonurie, mais activité réduite de l'enzyme (HOLT & Coll., 1963). De son côté, le rapport alanine/glycine qui est de 2,3 chez les enfants normaux, tombe à 0,4 - 0,9 dans les cas de kwashiorkor; de même le rapport glutamine + acide glutamique/glycine passe de 4,7 à 0,9 - 2,3 (EDOZIEN & OBASI, 1965).

5) Enzymes sériques

Dans les cas de kwashiorkor, l'activité de la pseudocholinestérase sérique est réduite à 31,8% de la valeur normale (EDOZIEN, 1961); ceci confirme les résultats obtenus par WATERLOW (1959 a). Il semble qu'il y ait réduction de la synthèse de cet enzyme par le foie, car l'activité de la cholinestérase hépatique est également faible : elle est réduite de 70% (MUKHERJEE & SARKAR, 1958). Cette réduction d'activité de la cholinestérase sérique s'observe également chez les Rats adultes soumis à une carence totale en protéines (BARROWS & CHOW, 1959).

L'activité de l'amylase sérique est également abaissée dans le kwashiorkor (WATERLOW, 1959 a); elle est égale à 72,6% de la valeur normale (EDOZIEN, 1961). Cette réduction de l'amylase sérique a également été mise en évidence chez les Porcs soumis à un régime pauvre en protéines, avec ou sans supplément de glucides (HEARD & Coll., 1958). La baisse d'activité de cet enzyme semble refléter une atrophie pancréatique.

On observe également dans le kwashiorkor, une baisse de l'activité de la phosphatase alcaline sérique (WATERLOW, 1959 a; SANDSTEAD & Coll., 1965 a); selon EDOZIEN (1961), elle est réduite à 59,2% de la valeur normale. Dans le foie, par contre, l'activité de cet enzyme est relativement élevée : elle présente une augmentation de 200% (MUKHERJEE & SARKAR, 1958), ce qui laisse supposer une excrétion déficiente de cet enzyme par le foie. HEARD & Coll. (1958) ont également observé une réduction de cet enzyme dans le sérum des Porcs soumis à un régime déficient en protéines, avec ou sans supplément de glucides.

Certains enzymes du sang présentent une activité accrue dans les cas de kwashiorkor. Ainsi dans 50% des cas, les activités des transaminases glutamique - oxaloacétique et glutamique - pyruvique sont légèrement supérieures à la normale, la première ayant augmenté davantage que la seconde; on observe de même une augmentation de l'activité de la déshydrogénase isocitrique (EDOZIEN, 1961). Selon cet auteur, ces augmentations seraient liées à des pertes de substances au niveau du foie et des muscles. Dans les carences partielles en protéines chez les Porcs, PLATT & Coll. (1964) ont constaté que les activités des transaminases glutamique-oxaloacétique et glutamique-pyruvique doublient de valeur par rapport aux animaux normalement nourris.

L'activité de la déshydrogénase lactique du sérum subit elle aussi une hausse dans les cas de kwashiorkor (SANDSTEAD & Coll., 1965 a); cette augmentation a également été observée chez les Rats carencés en protéines par WEIMER & Coll. (1959). A noter également dans le kwashiorkor, une réduction d'activité de l'anhydrase carbonique (WATERLOW, 1959 a) ainsi que de la lipase et de l'estérase sériques (SRINIVASAN & PATWARDHAN, 1952).

6) Glucides

a) Glucose

Dans les cas de kwashiorkor, le taux du glucose sanguin est inférieur à la normale (SLONE & Coll., 1961; BAIG & EDOZIEN,

1965; WHITEHEAD & HARLAND, 1966). En pratiquant une injection intraveineuse de glucose à ces enfants en dénutrition, on aboutit à une hyperglycémie prolongée dans la majorité des cas. La régulation de la glycémie s'effectue par conséquent moins bien chez l'enfant atteint de kwashiorkor que chez l'enfant en bonne santé : la tolérance au glucose est abaissée (SLONE & Coll., 1961; BAIG & EDOZIEN, 1965). GILLMAN & Coll. (1961), en injectant du glucose ($U-^{14}C$) ou du ($2-^{14}C$) pyruvate ont montré que le glucose marqué, soit dérivé du pyruvate, soit injecté tel quel, persiste plus longtemps dans le sang chez les enfants souffrant de kwashiorkor que chez les enfants normaux.

STEWART & HEARD (1959) ont noté chez les Porcelets soumis à une déficience en protéines-calories, des taux en glucose sanguin légèrement supérieurs à la normale; on n'observe cependant jamais de glycosurie ou de cétosurie. Ces mêmes auteurs, en administrant une surcharge en glucose par voie orale à ces animaux constatent une augmentation de la tolérance au glucose. Si le glucose est administré par voie intraveineuse, les Porcs déficients présentent une baisse de la tolérance au glucose (HEARD & Coll., 1961), ce qui contredit les résultats précédents; cette divergence reflète probablement une absorption défectueuse du glucose administré oralement.

En administrant à des Rats, par sonde stomacale, un régime carencé en protéines, on provoque une hyperglycémie qui atteint une valeur plus élevée et dont la durée est plus longue que chez les Rats recevant un régime à 15% de caséine (PLATT & Coll., 1962). Un certain nombre de ces Rats meurent dans un état d'hyperglycémie; ceux qui survivent semblent s'adapter à ces surcharges en glucides et leur glycémie redevient à peu près normale. L'hyperglycémie s'accompagne de glycosurie mais jamais de cétosurie.

b) Acides cétoniques

EDOZIEN (1959) a montré, à l'aide d'études chromatographiques que l'acide pyruvique, et dans certains cas, l'acide α -cétoglutarique sont présents en concentrations accrues dans le sang d'enfants atteints de kwashiorkor. Si on supplémente le régime par de la méthionine, l'acide pyruvique sanguin subit une forte réduction; il semble donc que l'accumulation d'acide pyruvique soit due, au moins en partie, à une déficience en groupements thiol.

WHITEHEAD & HARLAND (1966) ont également observé la présence de quantités élevées d'acides pyruvique et lactique dans le sang d'enfants souffrant de kwashiorkor; cette augmentation des concentrations en acide pyruvique et surtout en acide lactique s'observe également dans le sang des Porcs et des Rats déficients en protéines-calories (PLATT & Coll., 1964).

7) Lipides

CRAVIOTO (1958, cité par VITERI & Coll., 1964) a montré que dans les cas de kwashiorkor, les α et β lipoprotéines se rencontrent en faibles concentrations dans le sang. Dans la majorité des cas, on assiste également à une baisse des glycérides, des acides gras, des phospholi-

pides et du cholestérol (SCRIMSHAW & BEHAR, 1961). Selon AR-ROYAVE & Coll. (1961 a), la baisse de ces dernières substances, en particulier des phospholipides et du cholestérol, serait liée au manque de transporteurs protéiques sériques.

8) Le Cœur

Chez les enfants souffrant de kwashiorkor, le cœur est anormalement petit (SMYTHE & Coll., 1962; ALLEYNE, 1966) et présente des perturbations d'ordre fonctionnel. Ainsi SMYTHE & Coll. (1962) ont mis en évidence certaines anomalies dans les tracés des électrocardiogrammes : faible voltage en particulier au niveau du tracé QRS, quelquefois une inversion de l'onde T, augmentation de l'intervalle Q-T, et très occasionnellement des anomalies de rythme. On constate également une réduction du débit cardiaque accompagné de bradycardie (ALLEYNE, 1966).

WAINIO & Coll. (1954), en réalisant une carence en protéines chez le Rat, ont observé une baisse, d'une part du poids, d'autre part de la teneur en protéines du ventricule cardiaque; par contre, les activités des trois enzymes, cytochrome oxydase, succinodéshydrogénase et NAD cytochrome c réductase, rapportées à la teneur en protéines, ne varient pas.

III) REINS ET URINE

1) Reins

Que nous nous adressions à des cas de kwashiorkor ou de marasme, les modifications rénales du point de vue histologique sont identiques (VITERI & Coll., 1964). BRAS & Coll. (1957) ont décrit des changements au niveau des corpuscules de Malpighi : gonflement des cellules épithéliales des capsules de Bowman et hyalinisation partielle ou totale des glomérules.

PLATT & Coll. (1964) signalent également des modifications importantes dans les reins des Porcs soumis à une déficience protéique avec ou sans supplément de glucides. Les glomérules sont petits et l'on distingue une perte de cytoplasme dans les cellules de la partie proximale des tubes contournés, ainsi que dans les cellules au niveau des anses de Henle et des tubes collecteurs; cette perte de cytoplasme se traduit par une réduction de la taille des cellules.

Dans le cas d'une sévère malnutrition chez l'enfant, la perte de potassium intracellulaire a un effet nuisible sur la physiologie des cellules des tubes urinifères : on observe une diminution de la vitesse du processus de filtration au niveau du glomérule, un abaissement de débit du plasma rénal, et une détérioration dans les parties tissulaires (GOR-DILLO & Coll., 1957). SMITH (1959) a également mis en évidence un défaut d'acidification de l'urine.

Chez les Rats carencés en protéines, différents auteurs ont observé une baisse de la teneur en ARN et en protéines des cellules rénales (MANDEL & Coll., 1950; ALLISON & Coll., 1962; MUNRO & GOLDBERG, 1964); la teneur en ADN de son côté demeure constante (MANDEL & Coll., 1950).

Les reins de ces Rats ont également fait l'objet d'études enzymologiques. Ainsi, selon BARGONI & Coll. (1952), l'adénosinetriphosphatase et la choline déshydrogénase subissent une baisse d'activité, alors qu'un certain nombre d'enzymes - estérase, phosphomonoestérase, pyrophosphatase, dipeptidase, succinodéshydrogénase, catalase - demeurent stables. Les activités des enzymes - D-aminoacide oxydase, cytochrome oxydase, succinate cytochrome c réductase, NADH cytochrome c réductase - de leur côté, subissent une baisse de 10 à 20% par rapport aux valeurs obtenues chez les Rats témoins (WAINIO & Coll., 1959).

2) Urine

A) Volume

Dans le kwashiorkor, le volume urinaire est abaissé à la moitié ou au tiers du volume normal (EDOZIEN & PHILLIPS, 1961). De même, des Porcs soumis à une déficience sévère en protéines-calories éliminent beaucoup moins d'urine que les animaux recevant un régime normal (PLATT & Coll., 1964); ils sont également incapables de réagir à une charge en eau par voie orale (KNOWLES, 1957).

B) Substances azotées

WHITEHEAD & MATTHEW (1960) ont étudié l'élimination de l'azote urinaire chez les enfants atteints de kwashiorkor. En dépit d'une très faible ingestion de protéines, une quantité relativement importante d'azote est encore excrétée dans l'urine : 1 gramme ou moins par 24 heures, soit 10 à 25% de la quantité normale (EDOZIEN & OBASI, 1965); cet azote est essentiellement endogène. La baisse de l'azote urinaire a également été observée chez les Porcs déficients en protéines-calories : elle est d'autant plus prononcée que le régime est supplémenté en glucides (PLATT & Coll., 1964).

1) Urée

Dans le kwashiorkor, l'azote sous forme d'urée est fortement réduit : il ne représente plus que 63%, et même dans certains cas graves 33% de l'azote total urinaire, alors qu'il est d'environ 86% chez les enfants sains (WHITEHEAD & MATTHEW, 1960). De même, la teneur en urée du sang est réduite de moitié (ARROYAVE & Coll., 1962). PLATT & Coll. (1964) ont fait des constatations similaires dans l'urine de Porcs déficients en protéines-calories. Ces modifications dans les teneurs en urée du sang et de l'urine laissent supposer une perturbation du cycle de l'urée dans le foie (EDOZIEN, 1966).

2) Ammoniaque

L'azote ammoniacal, en pourcentage d'azote urinaire total, subit une nette augmentation chez les enfants souffrant de kwashiorkor (WHITEHEAD & MATTHEW, 1960), ainsi que chez les Porcs soumis à un régime déficient en protéines-calories (PLATT & Coll., 1964). En dehors d'une mauvaise synthèse de l'urée, l'excrétion accrue d'ammoniaque est probablement le résultat du défaut d'acidification de l'urine, et d'une excrétion accrue d'acides organiques (EDOZIEN &

PHILLIPS, 1961). DÆLL & STOCK (1962, cités par PLATT & Coll., 1964), ont mis en évidence des quantités accrues d'acide α -cétoglutarique dans l'urine de Rats carencés en protéines; il semble que la déficience en protéines-calories de la ration augmente l'activité des enzymes du rein qui libèrent l'ammoniaque à partir de la glutamine et de l'acide glutamique.

3) *Acide urique, créatine et créatinine*

Dans le sérum sanguin d'enfants souffrant de kwashiorkor, la teneur en acide urique est nettement augmentée : 8,5 mg/100 ml au lieu de 3,95 mg/100 ml (EDOZIEN & PHILLIPS, 1961); cette surproduction d'acide urique reflète une dégradation accrue d'acides nucléiques.

Dans le kwashiorkor, d'après EDOZIEN & PHILLIPS (1961), les concentrations sanguines en créatine et en créatinine sont normales; néanmoins, ARROYAVE & Coll. (1961 b) ont observé que la teneur sanguine en créatinine était supérieure à la normale. En pourcentage d'azote urinaire total, la créatine augmente alors que la créatinine baisse dans les cas de kwashiorkor (EDOZIEN & PHILLIPS, 1961). L'excrétion urinaire de la créatinine est en effet extrêmement faible (ARROYAVE & Coll., 1961 b); selon EDOZIEN & OBASI (1965) elle est réduite de 50 à 90% par rapport à la valeur normale. Cette baisse de la créatinine dans les urines est due à une variation de la clearance rénale, qui est en effet fortement abaissée chez les enfants atteints de kwashiorkor, au moment de leur admission à l'hôpital (ARROYAVE & Coll., 1961 b). Au cours des traitements, la clearance augmente ainsi que la quantité de créatinine dans les urines alors que la concentration en créatinine du sang baisse et demeure nettement en-dessous de la valeur normale pendant un certain temps. Selon STANDARD & Coll. (1959), en cours de traitement, la quantité de créatinine dans les urines augmente proportionnellement à l'accroissement de la masse musculaire; ARROYAVE & Coll. (1961 b) ne semblent pas partager cette opinion.

4) *Acides aminés*

Dans le kwashiorkor, on observe également une augmentation relative de l'azote peptidique et de l'azote des acides aminés libres (WHITEHEAD & MATTHEW, 1960); alors que chez les enfants normaux, ces deux formes d'azote sont en quantités égales, dans le cas présent, l'azote peptidique est en quantités plus importantes que l'azote des acides aminés libres (WHITEHEAD & MATTHEW, 1960; EDOZIEN & PHILLIPS, 1961).

On rencontre principalement dans les urines les acides aminés non essentiels, les acides aminés essentiels n'étant que rarement identifiés sur les chromatogrammes (EDOZIEN & Coll., 1960). Selon ces auteurs, cette aminoacidurie est du type rénal, étant donné que l'accroissement d'excrétion apparaît en dépit de la réduction de la teneur en acides aminés plasmatiques; il y aurait augmentation de la clearance à l'égard des acides aminés (EDOZIEN & OBASI, 1965), due à des modifications dans les mécanismes enzymatiques responsables de la réabsorption tubulaire des acides aminés à partir du filtrat glomérulaire, ayant elles-mêmes pour origine une perte en protéines cellulaires.

A noter que chez les Porcs et les Rats déficients en protéines-calories, PLATT & Coll. (1964) n'ont observé aucune anomalie dans l'excrétion des acides aminés.

a) Histidine

WHITEHEAD & ARNSTEIN (1961) ont mis en évidence dans l'urine d'enfants atteints de kwashiorkor la présence d'acide imidazole acrylique (acide urocanique); chez les sujets sains, cet acide, qui est un intermédiaire dans le catabolisme de l'histidine, y est normalement inexistant. Sa présence dans l'urine est due à une activité réduite de l'urocanase, enzyme hépatique, dégradant l'acide urocanique en acide α -formimino-L-glutamique (WHITEHEAD, 1964 b). GUPTA & ROBINSON (1961) ont obtenu une urocanase purifiée dont le coenzyme est le phosphate de pyridoxal; on peut donc supposer que la baisse d'activité enzymatique soit due à une déficience en pyridoxine. WHITEHEAD (1964 b) a également observé que l'urine de ces enfants contenait des quantités anormalement élevées d'histidine; il semble que l'histidine désaminase que l'on rencontre dans le foie et qui catalyse la désamination de l'histidine en acide urocanique, présente une activité enzymatique réduite, d'où le taux élevé d'histidine dans les urines. Des baisses d'activité de ces deux enzymes hépatiques ont été observées chez des Rats soumis à une carence en protéines (RAJAGOPAL RAO & Coll., 1965).

b) Phénylalanine et tyrosine

Plusieurs auteurs avaient déjà remarqué que, contrairement à l'urine normale, l'urine d'enfants atteints de kwashiorkor, renfermait plus de phénylalanine que de tyrosine (EDOZIEN & OBASI, 1965). WHITEHEAD & MILBURN (1962, 1964), après administration de phénylalanine à ces enfants, ont observé une excrétion accrue de phénylalanine, d'acide phénylpyruvique et également d'acide paraphénylpyruvique. Ces différentes anomalies sont dues à une diminution de l'activité enzymatique de la phénylalanine hydroxylase. Il semble probable que la décoloration des cheveux et de la peau, ainsi que les modifications d'ordre psychologique qui accompagnent le kwashiorkor avancé, soient liées à ces perturbations du métabolisme de la phénylalanine.

c) Éthanolamine et acide β -amino-isobutyrique

EDOZIEN & Coll. (1960) ont constaté un accroissement des concentrations en éthanolamine et en acide β -amino-isobutyrique dans le plasma sanguin d'enfants atteints de kwashiorkor; ces deux substances sont également excrétées dans l'urine en quantités importantes. Selon ces auteurs, la surproduction en éthanolamine serait le résultat d'un blocage métabolique dans l'utilisation de cette amine pour la synthèse de la choline. Ce blocage provient d'une déficience en donneurs de groupements méthyl; en effet, si on supplémente la nourriture en méthionine, on assiste à une réduction d'éthanolamine dans le plasma et les urines.

L'accumulation dans les urines de métabolites puriques et d'acide β -amino-isobutyrique, produit de dégradation de la thymine, met en évidence une forte destruction cellulaire. (EDOZIEN & PHILLIPS, 1961).

IV) TUBE DIGESTIF

1) Cavité buccale

En examinant des frottis de muqueuse buccale provenant d'enfants en dénutrition, SQUIRES (1961) a observé une forte augmentation du nombre des leucocytes; les cellules épithéliales ont tendance à se séparer, et une grande partie d'entre elles sont fortement endommagées (70% contre 10% chez les sujets sains). Ces détériorations des cellules épithéliales de la muqueuse buccale s'observent également chez les Porcs soumis à des régimes déficients en protéines-calories, en particulier dans le cas d'un apport supplémentaire de glucides dans la ration (SQUIRES, 1962, 1963). Dans les cas de kwashiorkor, les glandes salivaires sont souvent atrophiées (WATERLOW, 1959 a). PLATT & Coll. (1964) ont également observé quelques anomalies dans les dents de lait chez les Porcs déficients en protéines-calories.

2) Estomac

Dans le kwashiorkor, l'estomac est souvent dilaté; sa paroi, mince, est recouverte d'une muqueuse atrophiée; les sillons sont insignifiants et relativement rares (VITERI & Coll., 1964). PLATT & Coll. (1964 a) ont souvent observé des ulcères à la jonction de la muqueuse œsophagienne et gastrique chez les Porcs déficients en protéines-calories. Chez ces animaux, l'épithélium de revêtement de l'estomac est aplati et renferme un nombre accru de leucocytes; ce sont essentiellement les cellules des glandes du fond qui subissent une réduction de taille. Dans les cas de kwashiorkor, la sécrétion gastrique d'acide chlorhydrique est diminuée; ceci aurait pour origine une déficience en anhydrase carbonique (WATERLOW, 1959 a).

Si on donne à des Rats un régime carencé en protéines renfermant d'une part de l'amidon comme source de glucides, et d'autre part des graisses à une concentration faible, on constate que la vitesse à laquelle l'estomac se vide est accélérée; si on ajoute en effet un pourcentage croissant de caséine à ce régime, l'estomac se videra de moins en moins rapidement (ROGERS & HARPER, 1964).

3) Intestin

Dans le kwashiorkor, on observe une diminution du nombre et de la taille des villosités intestinales; la paroi de l'intestin est très mince, même transparente (VITERI & Coll., 1964). La muqueuse de l'intestin grêle subit une atrophie (WATERLOW, 1959 a). PLATT & Coll. (1964, 1964 a) ont également observé des modifications histologiques au niveau de la paroi de l'intestin grêle des Porcs soumis à une déficience en protéines-calories. Les intestins de ces animaux ont un diamètre faible et la paroi en est mince. Les villosités, réduites en hauteur, mais plus larges à la base, sont souvent dégarnies de cellules épithéliales à leur sommet. A noter également que les glandes de Lieberkühn ne sont pas aussi affectées par la carence en protéines que ne le sont les villosités.

Quand des Rats sont soumis à une carence en protéines, les concentrations en ARN et en protéines des cellules de la muqueuse de

l'intestin grêle ne subissent pas de variation; la vitesse de renouvellement de l'ARN n'est pas altérée (MUNRO & GOLDBERG, 1964). Cependant, JU & NASSET (1959) ont constaté que la concentration en azote de la paroi intestinale baisse rapidement dans le cas d'une carence protéique de huit jours. A l'aide de mesures d'incorporation de ^{32}P dans l'ADN des cellules de la muqueuse intestinale, MUNRO & GOLDBERG (1964) ont constaté que cette incorporation est réduite considérablement; en d'autres termes, la carence en protéines ralentit la multiplication cellulaire, ce qui explique la baisse de la concentration en protéines de la muqueuse intestinale, observée par JU & NASSET (1959).

Une dipeptidase, la prolidase, que l'on rencontre dans la muqueuse intestinale a été étudiée par HEARD (1957) chez les Porcs et les Rats soumis à une déficience en protéines-calories. Comparée à des animaux normaux de même âge, la quantité totale de cet enzyme dans l'extrait intestinal des animaux déficients est fortement réduite; par contre, elle demeure proportionnelle au poids corporel ce qui montre que la synthèse de la prolidase ainsi que probablement celle des autres enzymes intestinaux est maintenue chez les animaux carencés en protéines.

De nombreux auteurs ont constaté chez les enfants souffrant de kwashiorkor la présence de stéatorrhée à des degrés variables; la présence de celle-ci est liée à une mauvaise absorption des graisses (VITERI & Coll., 1964). ARROYAVE & Coll. (1959 b) avaient mis en évidence cette baisse d'absorption à l'aide de palmitate de vitamine A. On n'observe pas de stéatorrhée chez les Porcs et les Chiens soumis à une déficience en protéines-calories (PLATT & Coll., 1964 a). Cette diminution de l'absorption des graisses a été mise en évidence chez le Rat carencé en protéines à l'aide de trioléine marquée à l' ^{131}I (KEMENY & Coll., 1965). Par contre ces mêmes auteurs n'ont observé chez ces Rats qu'une légère diminution dans l'absorption de la ^{35}S méthionine; cette baisse n'est d'ailleurs pas significative.

4) La rate

WAINIO & Coll. (1959) ont observé chez les Rats carencés en protéines un abaissement du poids et de la teneur en protéines de la rate. Celle-ci perd en moyenne 50% de l'ARN et jusqu'à 55% de son ADN (JACOB & Coll., 1951) : la perte d'ADN reflète une véritable fonte des noyaux du parenchyme splénique; la réduction des acides nucléiques est cependant réversible.

5) Pancréas exocrine

Chez les enfants souffrant de kwashiorkor, le pancréas exocrine présente une baisse d'activité fonctionnelle. Des études histologiques ont montré, en effet, une atrophie des acini pancréatiques et surtout une absence de grains de zymogène, signe caractéristique du kwashiorkor, qui reflète une absence d'activité sécrétrice (BRAS & Coll., 1957; VITERI & Coll., 1964). Les activités enzymatiques de la lipase, de la trypsine et de l'amylase sont fortement abaissées (WATERLOW, 1959 a);

néanmoins, cette perte en enzymes pancréatiques est moins sévère chez les enfants souffrant de marasme que chez ceux atteints de kwashiorkor. Cette atrophie des acini et cette absence de grains de zymogène s'observent également chez les Porcs et les Rats soumis à un régime déficient en protéines (PLATT & Coll., 1964).

6) Foie

A) Lipides

Si le taux de matières grasses dans le foie est très élevé dans les cas de kwashiorkor (JELLIFFE & Coll., 1954; CHANDA, 1958; FRENK & Coll., 1958) et constitue une caractéristique clinique de cette maladie, il demeure quasiment normal dans les cas de marasme; ceci peut s'expliquer en considérant que l'excès des glucides est converti en graisses (Mc DONALD, 1960). Mc DONALD (1960) a constaté cependant que, dans le kwashiorkor, la fraction insaponifiable et les phospholipides hépatiques ne subissent pas d'augmentation de concentration; de même BURCH & Coll. (1957) n'ont pas observé de variation dans la teneur du cholestérol, alors que WATERLOW & WEISZ (1956) notent une baisse des phospholipides. C'est l'accumulation de graisses dans le foie qui est à l'origine de l'augmentation du volume hépatique dans le kwashiorkor; chez les enfants marasmiques, le foie subit une réduction de poids (VITERI & Coll., 1964). Quand ces enfants atteints de kwashiorkor sont soumis à un traitement à base de lait écrémé, donc reçoivent une nourriture riche en protéines, on constate une augmentation du cholestérol et des phospholipides dans le sérum ce qui coïncide avec une baisse des lipides hépatiques (ARROYAVE & Coll., 1959 a). Le fait que la concentration en phospholipides du tissu hépatique ne baisse pas parallèlement à son augmentation dans le sérum, laisse supposer que la biosynthèse hépatique de ces composés durant le traitement initial est suffisante pour compenser les quantités qui pénètrent dans la circulation (ARROYAVE & Coll., 1961 a).

Des Porcs soumis à un régime pauvre en protéines ne présentent pas de foie « gras », alors qu'un apport supplémentaire de glucides dans la ration se traduit par une accumulation de graisses dans le foie (HEARD & Coll., 1958). Chez des Rats en croissance, soumis *ad libitum* à un régime renfermant 6% de protéines (MENDES & WATERLOW, 1958) ou à un régime déficient en un ou plusieurs acides aminés (SIDRANSKY, 1960), on n'observe pas d'accumulation de graisses dans le foie. Par contre, si ces jeunes Rats reçoivent de force, à l'aide d'une sonde stomacale, une nourriture déficiente en un ou plusieurs acides aminés (SIDRANSKY, 1960) ou un régime carencé en protéines (PLATT & Coll., 1962), on observe à l'examen des foies une forte infiltration grasseuse. Ces différences dans les résultats entre une prise forcée d'aliment et une ration donnée *ad libitum* sont liées à la quantité de nourriture ingérée. Néanmoins, WILLIAMS & HURLEBAUS (1965 a) ont constaté, dans les foies de Rats adultes, soumis *ad libitum* à une carence totale en protéines, une augmentation pendant les huit premières semaines des concentrations des graisses neutres et

du cholestérol, suivie d'un retour à la normale si on poursuit la carence au-delà de 60 jours. Les phospholipides, par contre, subissent une baisse progressive au cours de la carence, qui peut être empêchée par adjonction au régime dépourvu de protéines de méthionine ou de cystine (WILLIAMS & HURLEBAUS, 1965 b). Dans le cas de Rats recevant la nourriture *ad libitum*, le poids du foie rapporté à 100 g de poids corporel, augmente au cours d'une carence totale en protéines, alors qu'il est constant dans le cas d'une inanition partielle (WILLIAMS, 1961 a).

B) Protéines

a) Acide désoxyribonucléique

La quantité d'ADN dans le noyau de la cellule hépatique ne subit pas de variation si des Rats adultes sont soumis à un jeûne protéique prolongé; par contre, chez des jeunes rats en croissance, un régime carencé en protéines provoque une légère augmentation de la teneur en ADN du noyau (VENDRELY, 1955). UMANA (1965) de son côté, observe une augmentation significative de l'ADN du noyau chez les rats adultes soumis à une carence totale en protéines ou à un régime renfermant 5% de zéine; les rats sevrés soumis à ces mêmes régimes ne présentent aucune variation dans la teneur en ADN du noyau de la cellule hépatique.

En admettant d'une part, que la quantité d'ADN par noyau dans le foie chez le Rat adulte demeure constante, d'autre part, que toutes les cellules renferment des noyaux diploïdes, les valeurs en ADN par mg de foie permettent de déterminer le nombre moyen de cellules par mg de foie.

Ainsi WILLIAMS (1961 a) a constaté que chez les rats carencés en protéines et les rats soumis à une inanition partielle, la concentration en ADN atteint 1,6 à 1,8 fois la valeur obtenue chez le Rat normal; on peut donc conclure à une augmentation dans les mêmes proportions du nombre des cellules par unité de poids frais. En calculant maintenant le nombre total de cellules à partir de la quantité totale d'ADN hépatique, WILLIAMS (1961 a) note dans les deux catégories de rats une baisse du nombre des cellules du foie par rapport aux Rats témoins. MANDEL & Coll. (1950) et UMANA (1965) en rapportant l'ADN au poids de tissu, notent également une augmentation de la quantité d'ADN dans le foie. Cependant, compte tenu de la variation du poids de cet organe, on peut conclure à une stabilité de la quantité d'ADN hépatique au cours du jeûne protéique chez le Rat (MANDEL & Coll., 1950).

b) Acide ribonucléique

Chez les Rats carencés en protéines, on observe une diminution de l'ARN hépatique oscillant entre 31 et 46% (MANDEL & Coll., 1950), diminution que l'on observe également chez les enfants souffrant de kwashiorkor (WATERLOW & WEISZ, 1956).

La déficience en protéines du régime alimentaire ne provoque pas une réduction de la vitesse de synthèse de l'ARN dans le foie de Rat

(MUNRO & CLARK, 1960). Comment expliquer alors la baisse du taux de l'ARN hépatique ? Ces auteurs ont mis en évidence une relation entre la quantité de protéines ingérée et la destruction de l'ARN; ainsi quand des rats sont soumis à un régime carencé en protéines, le taux de l'ARN hépatique tombe très rapidement le premier jour puis tend à se stabiliser; il y a eu destruction de l'ARN. L'ARN qui est le premier touché par cette destruction est l'ARN du reticulum endoplasmique (fraction microsomale). Ceci est en accord avec des observations au microscope électronique qui montrent que dans la cellule hépatique chez les animaux au jeûne protéique pendant plusieurs jours, il y a forte réduction du reticulum endoplasmique. La baisse de l'ARN dans le foie chez les animaux carencés est compensée après le premier jour par une augmentation de la vitesse de remplacement de l'ARN de sorte que la vitesse absolue de synthèse de l'ARN demeure constante.

MUNRO & Coll. (1965) et d'autres auteurs ont constaté par ailleurs chez le Rat, que le noyau de la cellule hépatique est également sensible à la teneur en protéines de la ration : le nucléole est en effet plus volumineux chez les rats carencés en protéines que chez les animaux normalement nourris. Après avoir isolé les noyaux des cellules hépatiques, MUNRO & Coll. (1965) ont pratiqué deux extractions successives : la première à l'aide d'un tampon phosphate, la deuxième à l'aide de NaCl M. Chacun de ces deux extraits renferme 1/4 de l'ARN contenu dans le noyau, le reste soit 50% environ se rencontre dans le résidu constitué par les nucléoles. Dans le cas d'une carence protéique, ces auteurs ont constaté que la quantité d'ARN dans les deux extraits est réduite alors qu'elle est nettement augmentée dans le résidu nucléolaire. En pratiquant une injection d'adénine ^{14}C , MUNRO & Coll. (1965) ont également montré que cette substance marquée est incorporée beaucoup plus rapidement dans l'ARN hépatique, en particulier dans l'ARN nucléolaire, chez les rats carencés en protéines que chez les rats témoins.

A noter que chez le Rat, l'activité de la ribonucléase du foie, rapportée à l'ADN, tend à augmenter quand la teneur en protéines de la ration alimentaire baisse (ALLISON & Coll., 1962). Il en est d'ailleurs de même de la ribonucléase sérique (ALLISON & Coll., 1962).

c) Protéines

Chez les enfants souffrant de kwashiorkor, on constate une perte en protéines hépatiques de l'ordre de 40% (WATERLOW & WEISZ, 1956; BURCH & Coll., 1957). MUKHERJEE & SARKAR (1958) signalent de leur côté une réduction de la concentration en azote hépatique d'environ 30%. Dans les cas d'une carence expérimentale en protéines, on observe des variations similaires dans la concentration des protéines hépatiques. Ainsi chez des Rats soumis à un régime contenant 6% de protéines, le rapport N/P-ADN tombe à la moitié de la valeur normale (MENDES & WATERLOW, 1958). Si le Rat est maintenant soumis à un jeûne protéique total, la perte en azote protéique est comprise entre 38 et 55% (MANDEL & Coll., 1950) alors que la concentration en azote total par cellule subit une chute d'environ 50%.

(WILLIAMS, 1961 a); chez le Rat soumis à une inanition partielle, la chute est moins forte, elle n'est que de 30% (WILLIAMS, 1961 a).

C) *Enzymes hépatiques*

Dans les cas de kwashiorkor, certains enzymes ont une activité réduite - xanthine oxydase et Damino-acide oxydase (BURCH & Coll., 1957), cholinestérase (WATERLOW, 1958; MUKHERJEE & SARKAR, 1958)-, d'autres par contre, ne subissent pas de variation d'activité - transaminase (BURCH & Coll., 1957; WATERLOW, 1958), malicodéshydrogénase (BURCH & Coll., 1957), NAD cytochrome c réductase (BURCH & Coll., 1957; WATERLOW, 1958), déshydrogénases lactique et glutamique (WATERLOW, 1958) -, d'autres enfin voient leur activité augmenter - phosphatase alcaline et catalase (MUKHERJEE & SARKAR, 1958). La concentration en NAD + NADP chez les enfants atteints de kwashiorkor est quasiment identique à celle déterminée chez ces mêmes enfants après guérison (BURCH & Coll., 1957).

BARGONI (1951) a étudié un certain nombre d'enzymes hépatiques chez des rats carencés en protéines. Les enzymes suivants - estérase, catalase, choline déshydrogénase, pyrophosphatase, adénosine-triphosphatase, arginase et succinodéshydrogénase - subissent une baisse d'activité; par contre, l'activité de la phosphomonoestérase est augmentée alors que celle de la dipeptidase ne subit pas de variation. WAINIO & Coll. (1953) ont également observé chez ces rats une réduction d'activité de la D amino-acide oxydase, de la NADH cytochrome c réductase, de l'uricase et de la xanthine oxydase.

MURAMATSU & ASHIDA (1962) ont étudié en détail les variations d'activité d'un certain nombre d'enzymes hépatiques en fonction de la teneur en protéines du régime alimentaire chez des jeunes rats; ils ont ainsi classé ces enzymes en quatre catégories :

- 1° l'activité augmente avec la teneur en protéines du régime, mais elle ne varie plus si cette teneur dépasse 25% (xanthine oxydase, succinodéshydrogénase et déshydrogénase glutamique) ou 10% (D amino acide oxydase); dans les cas de carence en protéines, les activités de ces enzymes sont donc extrêmement faibles.
- 2° l'activité est proportionnelle à la teneur en protéines de la ration donc également très faible quand la ration est privée de protéines : arginase, uricase, transaminase glutamique-pyruvique et transaminase glutamique-oxaloacétique.
- 3° l'activité ne varie pas quelle que soit la teneur du régime en protéines : cathepsine.
- 4° enfin dans le cas de la phosphatase alcaline, l'activité augmente chez des rats soumis à un régime pauvre ou dépourvu totalement de protéines.

En soumettant des Souris à une carence totale en protéines, SPIRITES & ALPER (1961) ont constaté que le taux de NAD hépatique est fortement abaissé alors que la teneur du foie en NADH ne subit

aucune variation; le rapport NAD/NADH est par conséquent fortement diminué par rapport aux animaux témoins (1,31 au lieu de 3,01).

L'ensemble du système enzymatique mitochondrial appelé succinoxydase comprenant la succinodéshydrogénase, le cytochrome b, le cytochrome c_1 , le cytochrome c et la cytochrome oxydase, a été étudié en détails par WILLIAMS (1961 b) dans le foie de Rats carencés en protéines et de Rats soumis à une inanition partielle. L'activité de la succinoxydase, rapportée à l'ADN, après une chute à 40% de la valeur normale au bout de 10 jours, augmente à nouveau jusqu'au 70^e jour de carence tout en restant inférieure à la normale; la succinodéshydrogénase a le même comportement que la succinoxydase. Il n'en est pas de même des autres composants du système enzymatique : ainsi le flux d'électrons à travers les cytochromes b et c_1 tombe à environ 65% de la normale et y demeure, l'activité du cytochrome c est inchangée; enfin l'activité de la cytochrome oxydase tombe à 15% de la normale après 46 jours de carence. WILLIAMS (1961 b) a ainsi défini un ordre de labilité de ces enzymes à l'égard d'une carence protéique; en partant du plus labile, nous aurons : cytochrome oxydase, succinoxydase, succinodéshydrogénase, cytochromes b + c_1 et enfin cytochrome c. Dans le cas d'une inanition partielle, l'ordre n'est pas exactement identique : cytochrome oxydase = cytochromes b — c_1 , puis succinodéshydrogénase, succinoxydase et enfin cytochrome c. WATERLOW (1958) avait également noté une baisse d'activité de la succinoxydase hépatique chez les enfants souffrant de kwashiorkor; la cytochrome oxydase de son côté présentait une activité normale. Cette stabilité de la cytochrome oxydase a de même été observée par WAINIO & Coll. (1953) chez les rats carencés en protéines.

L'adjonction de méthionine ou de cystine au régime dépourvu de protéines peut empêcher dans une certaine mesure les pertes d'activité de la succinoxydase et de la succinodéshydrogénase, comme elle freine par ailleurs l'abaissement de la concentration des phospholipides (WILLIAMS, 1964).

Il est possible que la perte importante d'activité de la cytochrome oxydase après une carence prolongée en protéines soit due en partie à la perte des phospholipides (WILLIAMS & HURLEBAUS, 1965 b) étant donné que les phospholipides semblent indispensables au maintien de l'activité enzymatique de la cytochrome oxydase (BRIERLEY & MEROLA, 1962). Cette hypothèse ne semble pas fondée; en effet, WILLIAMS & Coll. (1966) ont démontré que l'activité de la cytochrome oxydase ne reflète pas les variations de concentration des phospholipides dans le jeûne protéique, et en particulier que l'adjonction de méthionine au régime privé de protéines n'empêche pas la baisse d'activité de la cytochrome oxydase.

D) Glucides

Le foie d'un enfant souffrant de kwashiorkor renferme une quantité anormalement élevée de glycogène (WATERLOW & WEISZ, 1956); il en est de même du foie des Porcs soumis à un régime déficient en protéines calories (HEARD & Coll., 1958).

Si on provoque une hypoglycémie chez les Porcs déficients en protéines calories à l'aide d'une injection d'insuline, on constate par rapport aux animaux témoins, une augmentation du laps de temps au bout duquel la glycémie redevient à nouveau normale; ceci serait dû à un manque de glucose-6-phosphatase, enzyme hépatique qui scinde la molécule de glucose-6-phosphate en glucose et en H_3PO_4 et libère ainsi le glucose. (DURBIN & Coll., 1960; HEARD & STEWART, 1960). Dans le foie des Porcelets, l'activité de la glucose-6-phosphatase est négligeable; elle augmente avec l'âge chez les animaux normalement nourris. Par contre, chez ces mêmes Porcelets carencés en protéines, cette activité n'augmente pas, elle demeure insignifiante; c'est un exemple de maturation biochimique retardée résultant d'une malnutrition protéique (HEARD & Coll., 1961).

V) GLANDES ENDOCRINES

1) Hypophyse

La glande hypophyse des enfants atteints de kwashiorkor ou de marasme a été étudiée par TEJADA & RUSSFIELD (1957) : dans la préhypophyse, le pourcentage relatif des cellules basophiles demeure normal; par contre, le nombre des cellules acidophiles a tendance à baisser. Des observations similaires ont été faites sur les préhypophyses de rats adultes carencés en protéines; par contre, chez de jeunes rats privés de protéines alimentaires, la réduction du nombre et de la taille des cellules acidophiles est nettement plus marquée et de nombreuses cellules basophiles, en plus d'une réduction de taille, présentent une activité cellulaire réduite (SREBNIK & NELSON, 1962). Chez les rats carencés en protéines, le poids de la préhypophyse diminue approximativement dans les mêmes proportions que le poids corporel; le poids relatif de la préhypophyse varie donc peu (WARTER & Coll., 1958). GODWIN & PLATT (1960) en étudiant la préhypophyse de Porcs soumis à une déficience en protéines-calories ont abouti aux constatations suivantes : diminution de la taille des cellules par suite d'une perte de cytoplasme et apparition de vacuoles, ainsi que de kystes à travers la glande dont les différents types de cellules sont difficiles à identifier; certains noyaux sont hyperchromatiques et présentent une nécrose.

a) Thyroostimuline

Chez le Rat sous l'effet d'un régime déficient en protéines, l'activité thyroïdienne de l'hypophyse est considérablement diminuée (ASCHKENASY & Coll., 1952); la méthionine et, à un degré moindre, la cystine stimulent la sécrétion thyroïdienne hypophysaire en régime pauvre en protéines. Le fait que, malgré l'activation de l'hypophyse, ces acides aminés soufrés ne modifient pas l'état de repos fonctionnel de la thyroïde protéoprive, suggère l'éventualité d'un blocage de l'hormone thyroïdienne à l'intérieur de l'hypophyse (ASCHKENASY & Coll., 1952). WARTER & Coll. (1958) ont constaté chez le Rat que le contenu en thyroostimuline de la *pars distalis* décroît entre le 1^{er} et le 12^e jour puis se maintient entre le 12^e et le 36^e jour de l'inanition protéique,

alors que son activité excrétrice diminue progressivement au cours de la carence : les fonctions excrétrice et sécrétrice de la préhypophyse sont donc bien indépendantes et ne réagissent pas de la même façon à l'égard de la carence en protéines. Selon SREBNIK & NELSON (1962), la teneur en thyroostimuline chez des rats carencés demeure identique à celle déterminée chez les rats témoins, à l'exception toutefois des jeunes rats chez lesquels on observe une légère diminution.

b) Hormone de croissance

PIMSTONE & Coll. (1966) ont constaté que dans les cas de kwashiorkor, les teneurs du plasma en hormone de croissance sont nettement supérieures à la normale; ceci montre que la préhypophyse est capable d'un hyperfonctionnement au cours de cette déficience protéique, et que ces sujets atteints de kwashiorkor sont stoppés dans leur croissance, non par un manque de stimulus hormonal, mais par un apport insuffisant d'acides aminés dans la nourriture. SREBNIK & NELSON (1962), en déterminant la teneur en hormone de croissance de la préhypophyse chez des rats au jeûne protéique total, ont constaté que celle-ci est modérément réduite, comparativement à celle des rats témoins; HEARD (1966) note également une déficience en hormone de croissance chez les Porcs carencés en protéines.

c) Gonadostimulines

SREBNIK & NELSON (1962) ont montré que la carence en protéines chez le Rat mâle adulte se traduit au niveau de la préhypophyse, par une réduction modérée des deux gonadostimulines, l'hormone gamétocinétique (FSH) qui active la spermatogénèse et l'hormone de stimulation des cellules interstitielles (ICSH); chez de jeunes rats mâles au jeûne protéique, cette réduction est nettement plus importante. Ces mêmes auteurs ont constaté, par ailleurs, que chez ces rats mâles privés de protéines dans leur régime, l'atrophie des organes accessoires de la reproduction (vésicules séminales et prostate) est plus importante que celle des testicules.

Dans le cas de rats femelles soumis à une carence en protéines, chez lesquels on observe une atrophie marquée des ovaires, la teneur en hormone de maturation folliculaire (FSH) est plus élevée que chez les rats femelles témoins; la teneur en hormone de lutéinisation (ICSH) de son côté n'est pas modifiée (SREBNIK & Coll., 1961).

2) Thyroïde

Il existe peu de travaux concernant la glande thyroïde chez les enfants en dénutrition. TEJADA (1958) décrit néanmoins une atrophie de la thyroïde dans les cas de malnutrition protéique chez l'enfant; cependant la présence de goître chez ces sujets ne permet pas d'affirmer avec certitude que ces modifications soient dues à un manque de protéines.

De nombreux auteurs par contre ont étudié la thyroïde chez le Porc ou le Rat dans les cas d'une carence expérimentale en protéines. Chez le Rat soumis à une carence en protéines, on observe une dimi-

nution du poids absolu de la glande thyroïde; par contre, le poids relatif de cette glande augmente. En d'autres termes, comparée à l'animal entier, la thyroïde subit une moins forte chute de poids (ASCHKENASY, 1961 a; RAMALINGASWAMI & Coll., 1965). Au cours de l'inanition protéique, l'activité thyroïdienne est fortement réduite. Dans les glandes thyroïdes des Porcs soumis à une déficience en protéines, les cellules vésiculaires sont essentiellement plates et allongées, et on observe une réduction du nombre des vacuoles d'Aron (PLATT & STEWART, 1962 a). Chez les Rats carencés en protéines, les thyroïdes sont en repos fonctionnel avec un épithélium très plat et des vésicules larges et riches en colloïde non vacuolisée (ASCHKENASY & Coll., 1952).

On pense que la mise en repos de la thyroïde est due à l'arrêt du fonctionnement hypophysaire, en particulier à l'arrêt de l'excrétion de la thyrostimuline. Cependant, ASCHKENASY (1961 b) a constaté qu'une stimulation thyrotrope identique provoque apparemment une production moindre de thyroxine chez les rats carencés en protéines que chez les rats témoins; selon cet auteur, la déficience en protéines aurait donc un effet direct sur la glande thyroïde.

La diminution du métabolisme de base observée au cours de la carence en protéines chez le Rat, résulte non seulement d'un hypo-fonctionnement thyroïdien, mais aussi d'une réduction de l'activité de certains enzymes cellulaires d'oxydation tels que la succinoxydase, qui semble être particulièrement sensible à la privation en protéines (ASCHKENASY, 1961 a).

La teneur en iode thyroïdien est beaucoup plus faible chez les rats carencés en protéines ($6 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$ tissu) que chez les témoins ($22 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$ tissu); les concentrations du plasma en iode protidique sont elles aussi très réduites chez les rats carencés ($0,40 \mu\text{g}$ pour 100 ml contre $1-3 \mu\text{g}$) (PIETTE & ASCHKENASY, 1961). On ne peut cependant affirmer avec certitude que la réduction en iode thyroïdien et plasmatique observée chez les rats sans protéines résulte uniquement de la carence azotée; elle peut en effet être due en partie à la différence des teneurs en iode des régimes selon que ceux-ci contiennent ou non de la caséine.

3) Pancréas endocrine

Selon BEHAR & Coll. (1956, cités par VITERI & Coll., 1964), les ilots de Langerhans chez les enfants souffrant de kwashiorkor ou de marasme apparaissent fréquemment normaux du point de vue histologique.

Dans les carences expérimentales en protéines, il n'en est pas de même. Ainsi chez les Porcs déficients en protéines calories, les cellules individuelles des ilots de Langerhans sont réduites quant à leur taille (HEARD & Coll., 1958). On constate également des variations inégales des cellules α et β du pancréas; ainsi les cellules β apparaissent être relativement inactives alors que la proportion des cellules α est augmentée (STEWART & HEARD, 1959, 1960); il s'en suit que le rapport cellules β /cellules α chez les animaux déficients en protéines est plus faible

que chez les animaux normalement nourris. Il semble donc qu'il y ait atrophie des cellules β d'où sécrétion réduite d'insuline. En effet, BAIG & EDOZIEN (1965) ont constaté chez les enfants atteints de kwashiorkor des valeurs en insuline plasmatique, après injection de glucose, plus faibles que chez les sujets normaux. De même, ces auteurs ont mis en évidence une hypersensibilité à l'insuline; celle-ci a également été observée chez les porcs soumis à un régime déficient en protéines (STEWART & HEARD, 1959).

4) Surrénales

De fortes variations des surrénales, allant de l'atrophie à l'hyper-trophie, ont été décrites chez les enfants souffrant de déficience protéique d'origine alimentaire (PLATT & Coll., 1964).

LURIE & JACKSON (1962) ont démontré un hypofonctionnement des corticosurrénales chez les enfants atteints de kwashiorkor en dosant les 17-cétostéroïdes et les 17-hydroxycorticostéroïdes dans les urines : ils ont en effet constaté une excrétion urinaire réduite de ces stéroïdes; les surrénales répondent cependant à l'administration d'ACTH par une augmentation des stéroïdes urinaires. BAIG & EDOZIEN (1965) ont également noté une diminution du fonctionnement de la cortico-surrénale. ALLEYNE & YOUNG (1966), de leur côté, considèrent que le dosage des stéroïdes dans les urines est cause d'erreurs par suite du mauvais fonctionnement des reins; ils ont de ce fait dosé les 11-hydroxycorticostéroïdes dans le plasma et ont observé des taux élevés de ces substances chez les enfants atteints de kwashiorkor; ces auteurs concluent donc à un hyperfonctionnement des corticosurrénales.

Les glandes surrénales des Porcelets déficients en protéines-calories sont petites par rapport à la taille de ces glandes chez les animaux témoins de même âge, mais elles sont relativement grosses si on tient compte du poids corporel de l'animal (PLATT & Coll., 1964). DURBIN & HEARD (1962) ont constaté de leur côté que les glandes surrénales chez les Porcs soumis à un régime déficient en protéines-calories fonctionnent normalement; en effet, ces animaux maintiennent une excrétion régulière en stéroïdes (17-cétostéroïdes et 17-hydroxycorticostéroïdes) dans les urines, qui peut même être supérieure à la normale chez les sujets soumis à une sévère malnutrition; des résultats similaires ont été obtenus chez les rats carencés en protéines. Une déficience en protéines chez le Rat entraîne une baisse significative du poids de la surrénale, ainsi que de la quantité totale en phospholipides, en ARN et en protéines, et quand les expériences se prolongent, du taux de l'ADN, ce qui dénote, d'une part une perte de cellules, d'autre part une réduction de la quantité de certains constituants à l'intérieur des cellules subsistantes (HUTCHISON & Coll., 1960; MUNRO & Coll., 1962). La réponse de la glande à l'ACTH n'est pas influencée par la teneur et la valeur énergétique de la ration; il semble donc que la réduction des constituants de la surrénale, observée au cours d'une carence en protéines, ne soit pas due à une incapacité de synthèse de la part des surrénales, mais à une diminution de sécrétion d'ACTH par la préhypophyse (MUNRO & Coll., 1962). ASCHKENASY & Coll. (1966)

ont observé chez les rats au jeûne protéique que la perte de poids de la surrénale est nettement inférieure à la perte de poids corporel total; ils constatent en particulier que le rapport cortex/médullaire établi dans les coupes médianes tend à diminuer dans l'inanition azotée. Néanmoins, ces auteurs ont constaté une augmentation des taux de corticostérone plasmatique et surrénalien ce qui dénote un hyperfonctionnement des surrénales.

VI) SYSTEME NERVEUX CENTRAL

Le kwashiorkor est également caractérisé par certaines modifications d'ordre psychique : l'enfant souffrant de kwashiorkor présente une apathie mentale qui, à certains moments, peut être tellement sévère que l'enfant devient léthargique et totalement indifférent à ce qui l'entoure. Très facilement irritables, ces enfants crient sous l'action du moindre stimulus en émettant un cri faible et monotone (VITERI & Coll., 1964). Ils présentent un retard mental très marqué qui selon certains auteurs demeure même après une guérison clinique totale; d'autres auteurs, par contre, ont noté que l'enfant, après guérison, atteint le niveau mental normal pour son âge (SCRIMSHAW & BEHAR, 1961).

Si l'aspect du cerveau d'enfants morts de kwashiorkor est normal à l'autopsie, le fonctionnement du cortex cérébral est néanmoins perturbé chez les enfants souffrant de malnutrition protéique (ENGEL, 1956); cet auteur a en effet pu mettre en évidence sur les tracés de l'EEG une prédominance d'ondes lentes ce qui se traduit par un abaissement de la fréquence, donc un ralentissement de l'activité rythmique. ENGEL (1956) a par ailleurs constaté que l'état mental est abaissé ou au moins perturbé dans tous les cas où les enregistrements de l'EEG présentent de telles anomalies; après guérison, dans la majorité des cas les tracés de l'EEG redeviennent normaux. NELSON & DEAN (1959) ont également constaté des perturbations dans les enregistrements des EEG chez les enfants souffrant de kwashiorkor en Afrique; ils ont observé en particulier une activité électrique anormale au niveau des zones temporale et post-temporale.

Certains signes caractéristiques du kwashiorkor, tels que l'anorexie, la mauvaise régulation de la température, l'arrêt presque complet de la perspiration, et une motilité gastrointestinale défectueuse, permettent de supposer que l'hypothalamus et le système nerveux autonome sont perturbés (VITERI & Coll., 1964).

Les jeunes Porcs souffrant de malnutrition protéique sont souvent léthargiques; ils deviennent fréquemment semi-comateux peu de temps avant la mort, un phénomène similaire à l'état pré-mortel observé chez les enfants en dénutrition (PLATT, 1961). Leur comportement présente certaines anomalies : en plus du retard dans le développement, on observe parfois une certaine incoordination des membres postérieurs (PLATT & Coll., 1964). Ces mêmes auteurs ont également étudié le comportement des Chiens soumis à un régime déficient en protéines. Les jeunes chiens, nés de mères bien nourries, soumis à cette

carence partielle en protéines, présentent un retard dans la croissance et sont moins nerveux que les sujets bien nourris; néanmoins, on ne distingue pas de modifications neurologiques évidentes. Par contre, des chiens nés de mères en dénutrition protéique, ont un comportement anormal qui dénote des perturbations au niveau du système nerveux central: mouvements athétosiques de la tête et du cou, démarche ataxique; les EEG de ces chiens présentent des anomalies dans leurs tracés. On a également observé des modifications dans les tracés des EEG chez les Rats soumis à un régime carencé en protéines (PLATT & Coll., 1964).

La croissance du système nerveux central est moins sévèrement affectée par la déficience en protéines-calories que celle des autres organes de sorte que le rapport du poids du cerveau au poids corporel est élevé chez les animaux déficients (PLATT & Coll., 1964). Au cours de la malnutrition protéique chez le Porc, il apparaît des altérations pathologiques dans certains neurones du système nerveux central. Ainsi PLATT & STEWART (1960) et PLATT (1961) ont pu mettre en évidence des modifications histologiques au niveau des neurones moteurs des cornes antérieures de la moelle épinière, principalement dans la région lombaire: disparition progressive de la substance de Nissl et augmentation du nombre des cellules de la névroglie. MEYER & Coll. (1961) notent également une légère activation des astrocytes qui augmentent de taille et parfois en nombre. PLATT & STEWART (1960) ajoutent qu'ils ont observé des modifications semblables aux niveaux supérieurs du système nerveux central, spécialement dans les neurones moteurs de la formation réticulée.

MANDEL & Coll. (1950) ont constaté chez les Rats soumis à un jeûne protéique prolongé que les teneurs en ADN, ARN et protéines du cerveau total demeurent constantes; selon BARGONI & Coll. (1952) la teneur en azote du cerveau total serait abaissée de 21%. BARGONI & Coll. (1952) ont constaté également chez les Rats carencés en protéines que la phosphomonoestérase, la pyrophosphatase, la dipeptidase, la succinodéshydrogénase et la catalase ne subissent pas de variation d'activité alors que l'activité de l'adénosinetriphosphatase est réduite de 47%. Enfin WAINIO & Coll. (1959) ont étudié, chez le Rat, l'influence d'une carence en protéines sur quatre enzymes du cerveau: cholinestérase, cytochrome oxydase, succinate cytochrome c réductase et NADH cytochrome c réductase. Les activités de ces enzymes rapportées au mg d'azote, ne subissent aucune variation par rapport aux valeurs obtenues chez les rats témoins.

CONCLUSION

Un fait important se dégage de cette étude assez sommaire de la carence protéique : peu de travaux ont été exécutés en ce qui concerne l'influence de la nutrition protéique sur la constitution chimique, le métabolisme, la structure et l'activité fonctionnelle du système nerveux central.

En conséquence, il nous a paru intéressant de réaliser un jeûne protéique total chez le Rat et d'examiner l'influence de celui-ci sur certains composés du cortex cérébral. Notre travail comprend deux parties principales :

- 1°) L'évaluation de la concentration des constituants fondamentaux :
acide désoxyribonucléique, azote total et protéines.
- 2°) L'étude des acides aminés libres.
 - a) L'évaluation de la concentration en acides glutamique, aspartique et γ -aminobutyrique.
 - b) La détermination de l'activité de la décarboxylase de l'acide glutamique.
 - c) L'incorporation du carbone du glucose ($U-^{14}C$) dans les acides aminés.
 - α) La répartition de la radioactivité entre les acides aminés.
 - β) L'évaluation des radioactivités spécifiques des acides aspartique, glutamique et γ -aminobutyrique.



II) LE JEUNE PROTEIQUE CHEZ LE RAT

Pour pouvoir aborder l'étude des relations possibles entre la nutrition protéique et le métabolisme de l'écorce cérébrale, nous avons d'abord été amené à réaliser un jeûne protéique total, dans des conditions rigoureuses du point de vue nutritionnel; c'est le Rat adulte qui nous a servi de matériel d'étude.

Un certain nombre de chercheurs (WILLIAMS, 1961a; PLATT, HALDER & DÆLL, 1962) ont constaté, en soumettant un Rat adulte à un jeûne protéique, une baisse importante de la prise d'aliment. Pour empêcher cette dernière, dans le cas d'une carence en un acide aminé essentiel, ou dans le cas d'un régime renfermant une protéine végétale comme seule source d'azote, SIDRANSKY (1960) a administré aux rats, par sonde stomacale, une quantité de nourriture égale à celle ingérée normalement par des rats soumis à un régime complet. Il a abouti ainsi en trois jours à des observations cliniques et pathologiques assez voisines de celles observées dans les cas de kwashiorkor chez l'enfant. Par contre, en donnant cette même nourriture déficiente en acides aminés *ad libitum*, les rats consomment nettement moins, et, dans ce cas, des périodes allant de quelques semaines à quelques mois sont nécessaires pour qu'apparaissent des modifications d'ordre pathologique.

Nous avons opté pour cette dernière solution, et, pour pouvoir distinguer les modifications dues au jeûne protéique proprement dit, des effets résultant de l'inanition partielle produite par la prise réduite d'aliments, nous avons soumis simultanément des rats à une inanition partielle.

Toutes les expériences ont été effectuées sur des Rats mâles adultes, de la race Wistar, dont la souche a été régulièrement entretenue dans le laboratoire depuis de nombreuses années. Les animaux, âgés de 3 à 4 mois, d'un poids moyen de 250 g sont maintenus dans des cages individuelles à une température de 25° C. Afin de les accoutumer, on leur donne pendant 10 jours une ration complète purifiée, ayant la composition suivante :

Ration alimentaire purifiée *

Caséine dévitaminée	20 p. cent
Saccharose	63 p. cent
Cellulose en poudre	2 p. cent
Mélange salin	4 p. cent
Mélange vitaminique (I)	1 p. cent
Huile d'arachide	5 p. cent
Margarine	5 p. cent

* Ration employée au Laboratoire de Biochimie de la Nutrition du C. N. R. S. à Bellevue.

L-Cystine	1 g/kg de ration
Mélange vitaminique (II)	3 gouttes/kg de ration
Chlorure de choline	1 g/kg de ration
Vitamine B ₁₂	10 µg/kg de ration
Acétate de DL-α-tocophérol	40 mg/kg de ration
Vitamine K ₁	3 mg/kg de ration
Eau	250 ml/kg de ration

Mélange vitaminique (I)

Chlorhydrate de thiamine	1,5 mg/kg de ration
Riboflavine	2,5 mg «
Nicotinamide	15 mg «
Chlorhydrate de pyridoxine	1,5 mg «
D (+) pantothénate de calcium	5 mg «
(+) Biotine	150 µg «
Acide folique	500 µg «
Para-amino benzoate de sodium	0,3 g «
Mésoinositol	1,0 g «
On complète à 10 g à l'aide d'amidon de froment.	

Mélange vitaminique (II)

Vitamine A	50.000 U. I.
Calciférol	10.000 U. I.
On dissout dans 1 ml d'huile d'arachide.	

Mélange salin

K ₂ CO ₃	1125 g
CaCO ₃	1080 g
Na ₂ CO ₃	275 g
MgCO ₃	195 g
KI	0,16 g
MnSO ₄	1,25 g
NaF	1,90 g
Alun de K	0,20 g
Citrate de Fe (deuto)	50 g
Acide citrique	890 g
H ₃ PO ₄	480 ml
HCl	360 ml
H ₂ SO ₄	40 ml

La caséine renfermant des quantités relativement faibles de méthionine et de cystine (MITCHELL, 1959; SCHILLER & OCIO, 1963), nous avons supplémenté la ration d'une certaine quantité de L - cystine; les acides aminés soufrés jouent en effet un rôle très important dans la synthèse de la kératine, donc dans la croissance des poils, qui chez le Rat albinos adulte, se poursuit tout au long de la vie de l'animal (FRASER citée par MITCHELL, 1959). A noter que chez le Rat adulte, la cystine peut remplacer la méthionine dans la ration, ce qui n'est pas le cas chez le Rat en croissance (MITCHELL, 1962).

La vitamine C n'entre pas dans la composition de la ration alimentaire, car le Rat est capable de synthétiser celle-ci dans la limite de ses besoins. Enfin, certains oligo-éléments, tels que le zinc et le cuivre, qui ne figurent pas dans le mélange salin, sont fournis dans l'eau, qui sert à préparer la ration : nous avons utilisé à cet effet de l'eau non déminéralisée.

A la fin de la période d'accoutumance de 10 jours, les rats, dont le poids moyen est de 275 g, ont été séparés en 3 groupes :

- 1) **RATS AU JEUNE PROTEIQUE TOTAL** : ces rats ont été nourris à l'aide de la ration purifiée privée totalement de caséine et de cystine, celles-ci étant remplacées par une quantité isodynamique de saccharose. La concentration en glucides dans cette ration est donc de 83%.
- 2) **RATS EN INANITION PARTIELLE** : ceux-ci ont été nourris à l'aide de la ration purifiée complète, mais ils ont reçu une quantité d'aliment quotidienne égale à celle ingérée par les rats au jeûne protéique total.
- 3) **RATS TEMOINS** : ces derniers ont été nourris à l'aide de la ration purifiée complète distribuée *ad libitum*.

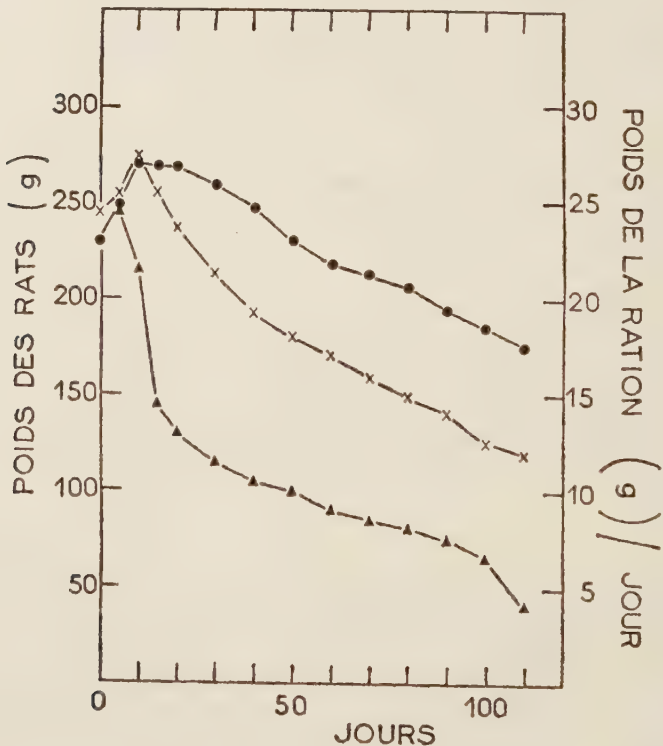


Fig. 1 - Variation du poids corporel chez des rats soumis au jeûne protéique (X - X), chez des rats en inanition partielle (● - ●) et variation de la quantité d'aliment consommé par les rats soumis au jeûne protéique (▲ - ▲).

Au cours de la période préparatoire de dix jours pendant laquelle les rats reçoivent la ration alimentaire complète, on assiste à une augmentation régulière du poids de ces animaux, bien que la quantité d'aliment ingérée, voisine de 25 g au début du traitement, diminue légèrement pour se stabiliser par la suite. Ainsi dans le cas des Rats témoins, nourris *ad libitum* à l'aide de cette ration complète, nous avons constaté qu'à partir du dixième jour environ ces animaux consommaient une quantité quotidienne d'aliment pratiquement constante et voisine de 20 g, ce qui se traduit par une augmentation régulière de leur poids (4 g en moyenne par jour).

Comment réagissent maintenant les rats des deux autres groupes à leurs traitements respectifs ? En réponse à cette question, reportons-nous à la figure 1 qui représente graphiquement les résultats obtenus à partir de 19 rats soumis au jeûne protéique total et de 8 rats soumis à une inanition partielle. Dès l'instauration du jeûne protéique, la diminution du poids des rats est particulièrement nette; elle persiste jusqu'à la mort où elle atteint en moyenne 60%. La diminution de la prise d'aliments est également régulière et importante. Nous avons pu maintenir des rats adultes au jeûne protéique pendant plus de 100 jours grâce à une méthode de rationnement rigoureuse et à un contrôle constant des conditions du milieu. A aucun moment, les animaux n'ont présenté la moindre modification dans leur comportement apparent; en particulier, ils n'ont jamais manifesté d'état léthargique ou semi-comateux, comme le Porcelet soumis à une malnutrition protéique (PLATT, 1961), et jusqu'à quelques heures avant la mort, ils ont maintenu intactes leurs fonctions d'équilibration. Nous avons enfin observé chez ces rats une perte importante de poils; cependant la carence en protéines n'entraîne pas une dénudation du rat, car la croissance des poils se poursuit probablement aux dépens des constituants des autres tissus (MITCHELL 1959). Chez les rats soumis à une inanition partielle, la perte de poids est moins prononcée que chez ceux soumis au jeûne protéique; elle n'atteint en effet que 39% environ au bout de 110 jours d'inanition partielle. La chute des poils est ici insignifiante. Quant à leur comportement, nous n'avons pu observer chez ces animaux inanitiés qu'une certaine nervosité.



III) LE CORTEX CÉRÉBRAL DU RAT : POIDS FRAIS, ADN, AZOTE TOTAL ET AZOTE PROTÉIQUE. *

Contrairement à certains organes comme le foie, le système nerveux central présente une structure très hétérogène; par conséquent, vouloir étudier biochimiquement l'organe total ne présente aucun intérêt. Il est absolument nécessaire de se limiter à une partie qui soit bien définie anatomiquement et homogène du point de vue structural. Nous nous sommes donc limité dans notre étude au cortex cérébral, substance grise des hémisphères cérébraux, qui renferme essentiellement les soma des neurones et les corps cellulaires et les fibres de la névrogliie.

Si nous voulons étudier l'effet d'une dénutrition protéique sur la composition chimique du cortex cérébral, le premier problème est d'envisager un standard de référence. Notre choix s'est porté sur l'ADN, qui, dans un organisme adulte, semble être le moins variable des constituants tissulaires. En effet, l'ADN, composant essentiel de la chromatine du noyau, peut être considéré comme une constante cellulaire, caractéristique de l'espèce (LESLIE, 1955; VENDRELY, 1955) : au cours de l'interphase, la quantité d'ADN des noyaux diploïdes est identique dans toutes les cellules d'une espèce donnée. L'ADN nous servira donc de standard de référence et nous permettra de déterminer la variation dans le nombre des cellules; en effet, une augmentation de l'ADN tissulaire est significative d'une augmentation du nombre des cellules (HOTCHKISS, 1955). L'ADN, servant de base de référence, nous permettra également de mettre en évidence des modifications, s'il y en a, dans les concentrations des autres constituants cellulaires que nous comptons étudier au cours de ce travail : l'azote tissulaire total qui représente assez fidèlement l'ensemble du protoplasme actif (HOLTER & LINDERSTRØM-LANG, 1951), et les protéines qui jouent un rôle de premier plan dans le métabolisme du système nerveux central.

D) Poids du cortex cérébral frais

Tableau 1 - Poids moyen du cortex cérébral frais pour les trois catégories de Rats.

Etat nutritionnel	Nombre de pesées	Poids moyen du cortex
Rats soumis au jeûne protéique pendant 15 à 100 jours	14	0,882 g ($\pm 0,028$)
Rats en inanition partielle pendant 40 à 140 jours	10	0,943 g ($\pm 0,056$)
Rats témoins <i>ad libitum</i>	11	0,964 g ($\pm 0,081$)

* LEHR & GAYET (1963).

Par rapport au poids moyen des cortex cérébraux des rats témoins, la diminution de poids de l'écorce cérébrale des rats en inanition partielle est de 2,2% alors que celle des rats au jeûne protéique est de 8,5%. Si nous tenons compte, d'une part, des erreurs dues à la technique de dissection et à la pesée, d'autre part, du degré d'humidité plus ou moins variable des tissus prélevés, nous pouvons affirmer que ces variations de poids sont négligeables.

II) L'acide désoxyribonucléique

1) Techniques

a) Extraction de l'ADN

L'ADN est formé d'acide phosphorique, de désoxyribose et de quatre bases azotées : deux bases puriques (adénine et guanine) et deux bases pyrimidiques (cytosine et thymine). Pour doser l'ADN dans un milieu biologique, il suffit de doser l'un des éléments constitutifs de la molécule : soit les bases par absorption spectrophotométrique dans l'U.V., soit le désoxyribose par la réaction colorimétrique à la diphénylamine (DISCHE, 1955), soit enfin le phosphate. C'est ce dernier que nous avons dosé dans le cortex cérébral de Rat.

Quelle que soit la méthode de dosage utilisée, il est nécessaire, au préalable, d'éliminer les substances gênantes, donc de pratiquer une extraction de l'ADN. Pour extraire l'ADN à partir du cortex cérébral de Rat, nous avons utilisé les méthodes associées de SCHMIDT & THANNHAUSER (1945) et de SCHNEIDER (1945, 1946) telles qu'elles sont décrites par VOLKIN & COHN (1954).

Après décapitation du rat, dissection en chambre réfrigérée (+ 20°C) et homogénéisation du cortex cérébral dans l'eau bidistillée à l'aide d'un appareil de POTTER-ELVEHJEM, muni d'un piston en téflon (Tissue Grinder, size A, Arthur H. Thomas, Philadelphia, USA), nous obtenons 5 ml d'homogénat à 20%, dont on soumet une fraction de 1 ml aux différentes extractions selon la technique de VOLKIN & COHN (1954).

L'homogénat est d'abord soumis à un traitement à l'acide trichloracétique 10% glacé pour éliminer les composés acidosolubles : deux extractions à l'aide de 2,5 ml d'ATC 10%. Au cours de cette étape, le phosphate inorganique, les composés phosphorés organiques de faible poids moléculaire, les coenzymes contenant des bases puriques et pyrimidiques et d'autres substances telles que les glucides passent en solution, alors que tous les acides nucléiques ainsi que les phospholipides et les protéines sont précipités. Pour empêcher une hydrolyse progressive des acides nucléiques, il faut veiller à ne pas augmenter la concentration de l'acide, à travailler à une température très basse, et à ne pas trop prolonger le contact de l'acide avec l'extrait tissulaire.

On élimine alors toute trace d'acidité par un premier lavage à l'aide de 1 ml d'eau bidistillée mélangé à 4 ml d'éthanol à 95°. suivi d'un deuxième à l'aide de 5 ml d'éthanol à 95°. Le précipité ainsi obtenu est alors délipidé.

Etant donné la teneur élevée en lipides du tissu nerveux, le traitement au mélange éthanol-ether ne permet pas une élimination totale des lipides (McKIBBIN & TAYLOR, 1949); nous avons donc envisagé de compléter cette délipidation en ayant recours au mélange chloroforme-méthanol préconisé par FOLCH & Coll. (1951). Le précipité est donc soumis à trois extractions successives de 15 minutes au bain marie à 37° C à l'aide de 3 ml du mélange éthanol-ether (3/1, V/V), puis à trois extractions successives de 15 minutes au bain marie à 37° C à l'aide de 3 ml du mélange chloroforme-méthanol (1/1, V/V). Pour éliminer toute trace de chloroforme qui pourrait gêner dans la suite de l'extraction, on pratique encore deux lavages du précipité à l'aide de 3 ml du mélange éthanol-ether, le premier lavage à 37° C pendant 10 minutes, le deuxième à la température du laboratoire. La majeure partie des solvants volatils qui subsistent dans le sédiment de centrifugation est alors éliminée par dessiccation sous vide à 20° C.

Le sédiment de centrifugation ainsi délipidé et renfermant les acides nucléiques est alors soumis à l'action de KOH N pendant 20 heures dans une étuve à 37° C (10 ml environ par gramme de tissu frais). Au contact de la potasse, les phosphoprotéines sont hydrolysées en protéines et en phosphore inorganique; quant aux acides nucléiques, si l'acide ribonucléique est réduit à l'état de mononucléotides acido-solubles, l'ADN de son côté n'est pas attaqué.

On pratique ensuite une neutralisation de la solution par HCl 6N puis par HCl 1N. Le mélange ainsi neutralisé, on précipite les protéines et l'ADN par 1 ml d'ATC à 5%, puis le culot de centrifugation est lavé à l'aide de 5 ml d'ATC à 5% : le phosphore inorganique, produit d'hydrolyse des phosphoprotéines ainsi que les mononucléotides provenant de l'acide ribonucléique passent en solution et sont, de cette façon, éliminées dans les liquides de lavage.

Il suffit alors de traiter le résidu obtenu par 5 ml d'ATC à 5% au bain marie à 90° C pendant 15 minutes pour scinder la molécule d'ADN en ses constituants : ce traitement libère en effet toute la guanine et l'adénine, le désoxyribose, le phosphate inorganique, le reste apparaissant sous forme d'associations pyrimidine nucléotides acido-solubles. Après refroidissement et centrifugation, on recueille le liquide surnageant qui renferme le phosphate de l'ADN. Le sédiment de centrifugation est encore lavé par 2,5 ml d'ATC à 5%.

Les liquides surnageants provenant de ces deux dernières centrifugations sont rassemblés; c'est sur cette solution limpide et incolore, renfermant le phosphate de l'ADN, ajustée à 10 ml à l'aide d'ATC à 5% que nous effectuerons les dosages de phosphore.

b) Minéralisation du phosphate

Pour doser le phosphore provenant ainsi de l'ADN, nous sommes obligé de le minéraliser au préalable; le dosage s'effectue en effet sur le phosphate inorganique.

Il est absolument nécessaire, dans le cas présent, d'avoir recours à une méthode de minéralisation qui n'ait pas de répercussions gênantes sur le dosage ultérieur du phosphore. Nous utiliserons la méthode à l'acide perchlorique (KING, 1932). L'acide perchlorique, que l'on obtient actuellement dans un état de pureté très poussé, à des concentrations de 60 à 70%, présente des avantages comme agent oxydant que ne possèdent pas les autres acides. L'oxydation par l'acide perchlorique est rapide, et l'eau oxygénée que l'on doit d'habitude ajouter à l'acide sulfurique, est ici superflue. D'autre part, et c'est un fait important, la plupart des sels de l'acide perchlorique sont très solubles. Nous utiliserons donc pour nos minéralisations l'acide perchlorique 70% Merck, dans les limites permettant un dosage du phosphore par la microméthode de BERENBLUM & CHAIN (1938 b).

HIRATA & APPLEMAN (1959) préconisent le traitement suivant : il faut ajouter 0,33 à 0,66 ml d'acide perchlorique à 70% à 2 à 4 ml d'extrait tissulaire contenant 1 à 10 μ g de phosphore. Il suffit alors de porter ce mélange à 203° C (point d'ébullition de l'acide perchlorique à 70%) pendant 40 minutes pour que la minéralisation soit complète.

Cependant 0,33 à 0,66 ml d'acide perchlorique à 70% est une quantité nettement trop forte si l'on se réfère à BERENBLUM & CHAIN (1938 b); la quantité optima d'acide perchlorique à 70% serait de 0,2 ml pour 2 ml d'extrait tissulaire contenant 1 à 10 μ g de phosphore.

Enfin reste à régler la question de la température : comme nous nous servons d'un bain de sable, il nous est impossible d'obtenir une température rigoureusement constante. Nous nous contenterons d'une température comprise entre 180° et 200° C environ, ce qui nous oblige à augmenter la durée de la minéralisation.

Pour mettre au point cette minéralisation, nous avons utilisé une solution d'ADN de concentration connue*. Plusieurs essais ont été réalisés pour bien montrer la reproductibilité de la méthode de minéralisation : l'échantillon renfermant 1 à 10 μ g de phosphore, soit 2 ml de la solution obtenue précédemment, une fois réduit à sec, est minéralisé à l'aide de 0,2 ml d'acide perchlorique à 70% pendant une heure au bain de sable à une température comprise entre 180 et 200° C.

c) Dosage du phosphore

Pour doser le phosphate de l'ADN ainsi minéralisé en phosphate inorganique, nous avons à notre disposition différentes méthodes, qui, toutes, tiennent compte de la propriété de l'orthophosphate à former un complexe avec l'acide molybdique suivant la réaction :



Dans l'étude de LINDBERG & ERNSTER (1956), nous relevons que TAYLOR & MILLER en 1914 avaient constaté que ce complexe phosphomolybdique donnait naissance par réduction à une substance bleue foncée, le « bleu de molybdène ». Le mécanisme de cette dernière réaction a été étudié en détail par BERENBLUM & CHAIN (1938 a).

* L'ADN nous a été aimablement donné par le Docteur R. VENDRELY

La première méthode intéressante concernant le dosage du phosphore a été mise au point par FISKE & SUBBAROW (1925) : le phosphate est converti en acide phosphomolybdique dans l'acide sulfurique 0,5 M, puis réduit par l'acide 1-amino-2-naphtol-4-sulfonique, réducteur moins puissant que le chlorure stanneux. A noter que cette méthode est très sensible à deux sortes de substances interférentes :

- les substances qui modifient l'acidité du milieu : acides, alcalis et tampons.
- les substances qui se combinent facilement à l'acide molybdique pour former des complexes difficiles à réduire (exemples : fluorures, citrates, etc...).

Avec KUTTNER & COHEN (1927) qui utilisent le chlorure stanneux à la place de l'acide 1-amino-2-naphtol-4-sulfonique, on assiste à une augmentation de la sensibilité du dosage, mais, comme dans le cas du dosage du phosphore par la méthode de FISKE & SUBBAROW (1925), on note des interférences dues aux mêmes substances. De plus, les substances qui font varier la concentration de l'agent réducteur tels que les nitrates ou les hypochlorites, interfèrent également dans la réaction. A signaler également que dans cette technique de KUTTNER & COHEN (1927) le témoin à blanc est légèrement coloré de sorte que le dosage des faibles concentrations en phosphore est sans garantie.

C'est l'idée originale de BERENBLUM & CHAIN (1938 b) de tenir compte de l'extrême solubilité de l'acide phosphomolybdique dans les solvants organiques (dans l'isobutanol en particulier) qui a permis de supprimer les interférences provoquées par les différentes substances citées ci-dessus.

Dans cette technique, l'acide phosphomolybdique, formé en faisant réagir du phosphate sur du molybdate d'ammonium dans une solution aqueuse d'acide sulfurique, est extrait par l'isobutanol. Après avoir éliminé la couche aqueuse, donc par la même occasion l'excès de molybdate, on lave plusieurs fois la phase organique contenant l'acide phosphomolybdique par de l'acide sulfurique dilué; puis cet acide phosphomolybdique est réduit dans l'isobutanol en mettant ce dernier au contact d'une solution aqueuse de chlorure stanneux. L'isobutanol se colorant en bleu, il suffit d'éliminer la phase aqueuse, puis de doser au photomètre, l'intensité de la coloration de cette phase organique. L'élimination de la phase aqueuse et le lavage de la phase alcoolique par de l'acide dilué avant réduction, empêchent le développement de la coloration dans le témoin à blanc, par conséquent, permettent de doser avec sûreté des concentrations faibles en phosphore.

Etant donné que cette extraction peut se faire dans une zone d'acidité assez large (0,05 à 1,5 N H_2SO_4) et qu'elle n'est pas affectée par la présence d'un excès d'acide molybdique, il est permis de varier d'une façon considérable la concentration des réactifs sans risque de provoquer des perturbations dans la coloration finale.

BERENBLUM & CHAIN (1938 b) ont mis au point, en partant de la technique décrite ci-dessus, une microméthode de dosage du phosphore. C'est cette dernière que nous avons utilisé pour doser le phosphore provenant de l'ADN.

Mode opératoire

La minéralisation étant terminée, on complète à 2 ml avec de l'eau bidistillée et on pratique le dosage du phosphore sur la solution ainsi obtenue. Pour effectuer ce dosage, on se sert de micropipettes à constriction de PREGL (1923) et de microfoies de WIAME (1947).

On mélange dans la microfoie de WIAME :

0,25 ml de la solution I*

0,25 ml d'une solution de molybdate d'ammonium à 5%

0,50 ml de la solution à doser

1,00 ml d'isobutanol (Merck)

N. B. : Pour l'essai à blanc, il suffit de remplacer les 0,50 ml de la solution à doser par 0,50 ml d'eau bidistillée. Quant aux solutions provenant de la minéralisation, elles renferment déjà de l'acide perchlorique et de l'ATC; par conséquent, lors du dosage du phosphore, les 0,25 ml de la solution I seront remplacées par 0,25 ml d'eau bidistillée.

Après avoir agité l'ensemble, on laisse décanter, puis on élimine la phase organique. La phase alcoolique est alors lavée deux fois avec 0,5 ml de H_2SO_4 1N. L'excès d'acide molybdique ayant été ainsi éliminé avec la phase aqueuse, on ajoute à la phase organique qui subsiste, 1,5 ml de la solution de chlorure stanneux diluée (solution II**).

Après agitation et décantation, on élimine la partie aqueuse. La phase organique colorée en bleu, est ensuite amenée à 4 ml avec de l'éthanol à 95°. On détermine alors l'intensité de la coloration de cette solution à l'aide du photomètre SPEKKER-HILGER : filtre n° 8, cuve de 1 cm de section.

Pour calculer la concentration en phosphore de la solution, il suffit de se reporter à la courbe étalon donnant la concentration en phosphore par rapport à l'intensité de la coloration. Pour tracer cette courbe de référence, nous nous sommes servi de phosphate monopotassique KH_2PO_4 Merck, à des concentrations variant de $0,5 \mu\text{g}$ à $5 \mu\text{g}$ de phosphore par ml.

* solution I : 5 ml H_2SO_4 10N + 20 ml eau bidistillée.

** solution II : 1 ml de la solution-mère de chlorure stanneux est diluée 200 fois avec H_2SO_4 1N. A préparer extemporanément.

Solution-mère de chlorure stanneux : 10 g de chlorure stanneux sont dissous dans 25 ml HCl concentré. A conserver dans un flacon brun à l'abri de la lumière.

Etant donné que le photomètre SPEKKER-HILGER est pourvu de filtres et ne permet donc pas de travailler à n'importe quelle longueur d'onde, nous avons tracé, au préalable, la courbe de variation de l'intensité de la coloration en fonction de la longueur d'onde, à l'aide du colorimètre JEAN & CONSTANT avec une solution à 10 μg de phosphore par ml. L'intensité maxima est située à $\lambda = 630 \text{ m}\mu$, ce qui nous oblige à utiliser le filtre n° 8 (longueur d'onde : $\lambda = 670 \text{ m}\mu$) dans le cas du photomètre SPEKKER-HILGER; nous nous sommes servi de ce dernier du fait de sa plus grande sensibilité.

2) Résultats

Dans le tableau 2, nous avons groupé les résultats des dosages effectués sur l'écorce cérébrale des trois groupes de rats. Ce tableau indique, le nombre de dosages effectués, le nombre de rats sacrifiés dans chaque groupe, la quantité de phosphore de l'ADN exprimée en μg et rapportée, soit à 100 mg de cortex frais, soit au cortex total. Comme de nombreux auteurs considèrent que le phosphore représente 10% en poids de l'ADN (LESLIE, 1955), il suffit de multiplier les valeurs par dix pour obtenir les quantités d'ADN correspondantes.

Tableau 2 - Concentration en phosphore de l'ADN (P-ADN) dans l'écorce cérébrale du Rat soumis à différents états nutritionnels.

Etat nutritionnel	Nombre de dosages effectués	P-ADN (μg) pour 100 mg de cortex frais	P-ADN (μg) par cortex cérébral
Rats soumis au jeûne protéique pendant 15 à 100 jours (8)	81	$5,70 \pm 0,32$	50,04
Rats en inanition partielle pendant 40 à 60 jours (4)	45	$5,70 \pm 0,21$	58
Rats nourris <i>ad libitum</i> (4)	62	$5,39 \pm 0,26$	53,63

En utilisant ainsi, d'une part, la technique d'extraction décrite par VOLKIN & COHN (1954), d'autre part, la microméthode de BERENBLUM & CHAIN (1938 b) pour le dosage du phosphore, nous obtenons des valeurs dont la précision est des plus satisfaisantes.

Comparer les valeurs ainsi obtenues à celles indiquées par LESLIE (1955) est absolument impossible du fait que ces dernières ont été déterminées sur le cerveau total de Rat alors que nous avons dosé l'ADN uniquement dans le cortex cérébral. Les valeurs que nous obtenons sont néanmoins plus faibles que celles réunies par LESLIE (1955) dans le cas du cerveau total chez le Rat adulte : ces dernières, exprimées en μg par 100 mg de tissu frais varient en effet entre 20 (SCHNEIDER, 1946) et 9,4 (RERABEK, 1947).

Si nous comparons maintenant les différentes valeurs obtenues à partir des trois catégories de rats, nous constatons que la concentration en P-ADN du cortex ne varie pas, quel que soit le régime alimentaire auquel nous soumettons les rats. MANDEL & Coll. (1950) ont abouti à la même conclusion en dosant l'ADN dans le cerveau total de Rat soumis à un régime carencé en protéines.

III) L'azote total

1) Techniques

Après décapitation du Rat, dissection en chambre réfrigérée (+ 2° C) et homogénéisation, en présence d'eau bidistillée, à l'aide de l'appareil de POTTER - ELVEJHEM, nous obtenons 5 ml d'homogénat à 20%.

On prélève 0,5 ml de cet homogénat que l'on place dans une étuve à 90° C jusqu'à dessiccation totale; l'azote organique contenu dans cet échantillon est alors minéralisé à l'aide de 1 ml du réactif minéralisant de NEEDHAM & BØELL dont voici la composition :

CuSO ₄	3 g	} dans 300 ml H ₂ SO ₄ pur (Merck)
K ₂ SO ₄	1 g	
SeO ₂	0,1 g	

La minéralisation s'effectue au bain de sable électrique à 300° C. Au cours de cette opération, l'azote est converti en ammoniacque et fixé sous forme de sulfate d'ammonium. La minéralisation achevée, il suffit de refroidir le liquide incolore ainsi obtenu et de compléter à 10 ml par de l'eau bidistillée; c'est sur cette solution de sulfate d'ammonium que nous effectuerons les dosages d'azote total.

L'azote est dosé par la méthode de microdiffusion de CONWAY (1950). Dans cette méthode de dosage, l'azote, par alcalinisation du milieu, passe sous forme d'ammoniac volatil; ce dernier, adsorbé par de l'acide borique, est dosé directement à l'aide d'une solution de H₂SO₄ N/50.

Pour effectuer ce dosage, nous utilisons des cellules ou « unités » CONWAY constituées de deux parties. :

- 1) un compartiment central dans lequel nous versons 1 ml du réactif borique;* celui-ci renferme de l'acide borique permettant l'adsorption de l'ammoniac, et un indicateur coloré.

* *Réactif borique* : On introduit dans un ballon jaugé d'un litre 10 g d'acide borique pur, 200 ml d'éthanol à 95° et 700 ml d'eau bidistillée. On agite le tout afin de dissoudre l'acide borique, puis on ajoute 10 ml d'indicateur coloré :

vert de bromocrésol	: 0,033 g
rouge de méthyle	: 0,066 g
éthanol à 95°	: Q.S. 100 ml

Le mélange est alors amené à une teinte rose pâle qui est la teinte de virage, à l'aide de quelques gouttes de NaOH 1N, et ajusté à 1000 ml.

- 2) un compartiment périphérique dans lequel nous versons la solution à doser, soit dans le cas présent, 0,5 ml de la solution de sulfate d'ammonium préparée précédemment.

Immédiatement après avoir ajouté dans le compartiment périphérique 1 ml de KOH à 40%, on ferme hermétiquement la cellule de CONWAY par une plaque de verre vaselinée pour empêcher toute perte d'ammoniac.

La cellule est ensuite placée sur une table oscillante pendant 20 minutes, puis sur un support immobile pendant 90 minutes; à la fin de ce laps de temps, la diffusion est terminée. Au cours de cette diffusion, le réactif borique, dont le pH initial était approximativement égal à 5, vire du rouge au vert, la coloration verte correspondant à un pH supérieur à 8.

L'ammoniac, adsorbé par l'acide borique est alors dosé directement par H_2SO_4 N/50 à l'aide d'une seringue micrométrique AGLA (Burroughs Wellcome & Co, London). Cette technique de microdosage est très précise; elle permet de doser des quantités d'azote comprises entre 10 et 100 μg .

2) Résultats

Dans le tableau 3, sont réunis les résultats des dosages effectués sur les trois groupes de rats. Ce tableau indique, pour chaque groupe, le nombre de rats sacrifiés, le nombre de dosages effectués et la quantité d'azote exprimée en μg par rapport à 100 mg de cortex cérébral frais et par rapport à 1 μg de phosphore de l'ADN.

Nous constatons d'une part, que la concentration en azote total du cortex cérébral est constante quel que soit le régime alimentaire auquel nous soumettons les rats, d'autre part, que la valeur moyenne rapportée à 100 mg de cortex cérébral frais est voisine de celle indiquée par SPECTOR (1956) : 1,8 mg par 100 mg de substance grise.

Tableau 3 - Concentration en azote total dans l'écorce cérébrale du Rat soumis à différents états nutritionnels.

Etat nutritionnel	Nombre de dosages effectués	Azote (μg)/ 100 mg de cortex frais	Azote (μg)/ 1 μg P-ADN
Rats soumis au jeûne protéique pendant 60 à 100 jours (7)	72	1853 ± 40	$325,3 \pm 7,0$
Rats en inanition partielle pendant 60 à 140 jours (5)	53	1892 ± 39	$332 \pm 6,8$
Rats nourris <i>ad libitum</i> (4)	48	1815 ± 25	$336,5 \pm 4,7$

Envisager dans le cas présent des comparaisons avec des travaux similaires s'avère presque impossible, peu de chercheurs ayant étudié ce problème. Il faut signaler cependant les travaux de BARGONI & Coll. (1952) sur le cerveau total; selon ces auteurs, on assiste au cours de la carence protéique, chez le Rat, à une diminution de 21% de la concentration en azote total, ce qui est en opposition avec nos résultats.

Deux critiques sont à formuler à l'encontre de ces derniers travaux :

- 1) La ration alimentaire préconisée par BARGONI (1951) ne semble pas rigoureuse; d'une part, il manque de la cellulose, d'autre part, le fait d'ajouter dans la nourriture 1% de levure séchée ne permet pas de définir d'une façon exacte la composition de la ration alimentaire.
- 2) Si le dosage de l'azote a été effectué par la méthode de KJELDAHL, pourquoi traiter au préalable l'homogénat tissulaire par les solvants des lipides et éliminer ainsi une partie de l'azote ?

IV) AZOTE PROTEIQUE - PROTEINES

1) Techniques

a) Extraction des protéines

La détermination de l'azote protéique dans le cortex cérébral de Rat implique au préalable, une extraction des protéines. Après decapitation du rat, dissection en chambre réfrigérée ($+ 2^{\circ}\text{C}$) et homogénéisation du cortex cérébral à l'aide de l'appareil de POTTER-ELVEJHEM, nous obtenons 5 ml d'homogénat à 20% que nous diluons encore cinq fois.

Les protéines contenues dans cet homogénat sont d'abord précipitées par l'acide trichloracétique pour éliminer l'azote acido-soluble suivant la méthode décrite par CLELAND & SLATER (1953) dans le cas des protéines du myocarde, puis soumises à une délipidation très poussée (cf. extraction de l'ADN), ce qui permet la rupture des liaisons lipoprotéiques et l'élimination de tout l'azote d'origine lipidique.

A 1 ml d'homogénat, nous ajoutons 1 ml d'ATC à 10%. Le précipité obtenu après centrifugation est lavé à l'aide de 2 ml d'éthanol à 50% (v/v) contenant une goutte d'ATC à 40% (P/V). Le sédiment de centrifugation est ensuite délipidé de la façon suivante : trois lavages successifs de 15 minutes au bain marie à 37°C à l'aide de 2 ml du mélange éthanol-ether (3/1), puis trois lavages successifs de 15 minutes au bain marie à 37°C à l'aide de 2 ml du mélange méthanol-chloroforme (1/1) et enfin pour supprimer toute trace de chloroforme, un lavage à l'aide de 2 ml du mélange éthanol-ether (3/1).

b) Dosage de l'azote protéique

Le tube à centrifuger, après élimination du liquide surnageant est placé dans une étuve à 90°C jusqu'à dessiccation totale. La minéralisation de l'azote organique s'effectue ensuite au bain de sable électrique à 300°C à l'aide de 1 ml du réactif minéralisant de NEEDHAM & BELL.

A la fin de la minéralisation, il suffit de compléter à 10 ml avec de l'eau bidistillée pour obtenir la solution de sulfate d'ammonium sur laquelle nous effectuerons les dosages d'azote. Le dosage de l'azote protéique se fera sur des échantillons de 0,5 ml de la solution de sulfate d'ammonium, par la méthode de microdiffusion de CONWAY (1950).

2) Résultats

Le tableau 4 résume les résultats obtenus sur les trois groupes de rats. Il indique, pour chaque groupe, le nombre de rats sacrifiés, le nombre de dosages effectués, la quantité d'azote protéique exprimée en μg pour 100 mg de cortex frais et pour 1 μg de P-ADN, et la quantité de protéines exprimée en mg soit pour 100 mg de cortex frais, soit pour 1 μg de P-ADN. En effet, sachant que la teneur en azote des protéines est généralement voisine de 16%, il suffit de multiplier la valeur en azote protéique par le coefficient 6,25 pour obtenir la valeur en protéines correspondante.

Tableau 4 - Concentration en azote protéique et en protéines dans l'écorce cérébrale du Rat soumis à différents états nutritionnels.

Etat nutritionnel	Nbre de dosages effectués	μg Azote/ 100 mg de cortex frais	μg Azote/ 1 μg P-ADN	mg Protéines/ 100 mg cortex frais	mg protéines/ 1 μg P- DN
Rats soumis au jeûne protéique pendant 60 à 100 jours (7)	72	1472 ± 39	$258,4 \pm 6,8$	$9,20 \pm 0,24$	$1,62 \pm 0,04$
Rats en inanition partielle pendant 60 à 140 jours (5)	54	1480 ± 46	$259,8 \pm 8$	$9,25 \pm 0,29$	$1,62 \pm 0,05$
Rats nourris <i>ad libitum</i> (6)	58	1449 ± 37	$268,7 \pm 6,9$	$9,06 \pm 0,23$	$1,68 \pm 0,04$

En comparant les concentrations en protéines dans le cortex cérébral des trois catégories de rats, nous constatons que la quantité de protéines totales, obtenue après traitement de l'écorce cérébrale par les solvants lipidiques, ne varie pas, quel que soit l'état nutritionnel du Rat. MANDEL & Coll. (1950) avaient abouti à la même conclusion en dosant les protéines dans le cerveau total de Rat soumis à une carence protéique.

Si nous nous référons aux travaux de CLOUET & GAITONDE (1956), nous constatons qu'au cours de la croissance du Rat normal, la teneur en azote protéique du cerveau total augmente régulièrement du premier au 33^e jour, puis se stabilise autour d'une valeur égale à 1,45 mg pour 100 mg de tissu frais. Cette quantité d'azote protéique est donc identique à celle que nous avons déterminée dans le cortex cérébral. Cependant, le taux de protéines indiqué par CLOUET & GAITONDE (1956) pour le cerveau total (10,38 mg pour 100 mg de tissu frais) est nettement supérieur à celui figurant dans le tableau 4; ceci est dû au fait que ces auteurs ont multiplié la valeur en azote protéique par le coeffi-

cient 7,15 et non par 6,25 pour obtenir le taux de protéines. Selon ces auteurs, en effet, le pourcentage d'azote dans les protéines du cerveau de Rat adulte est égal à 14%.

Alors que CLOUET & GAITONDE (1956) ont dosé, comme nous, les protéines par l'intermédiaire de l'azote protéique, BENNETT & Coll. (1961) ont dosé directement les protéines de l'aire visuelle et de l'aire somesthésique du cortex cérébral de Rat à l'aide du réactif au phénol de FOLIN-CIOCALTEU; le dosage a été effectué directement sur l'homogénat. Les valeurs en protéines obtenues par ces auteurs (10,5 mg pour 100 mg de tissu frais en moyenne) semblent discutables, et ceci pour différentes raisons :

- 1) Une certaine proportion de la coloration peut être due à des matériaux non protéiques contenus dans l'homogénat, et ceci d'autant plus qu'aucun traitement d'extraction des protéines n'a été réalisé sur cet homogénat.
- 2) La technique de FOLIN-CIOCALTEU, en elle-même, présente certains désavantages (LOWRY & Coll., 1951). D'une part, l'intensité de la coloration varie avec les différentes protéines, d'autre part, cette même intensité n'est pas strictement proportionnelle à la concentration en protéines. En somme, comme l'écrivait KIRK (1947) dans un article consacré aux différentes techniques de dosage des protéines, l'utilisation du réactif de FOLIN-CIOCALTEU pour le dosage des protéines est un procédé empirique.

WAINIO & Coll. (1959) ont également dosé les protéines dans le cerveau total de Rat. Ici encore, les résultats obtenus sont très discutables : en effet, WAINIO & Coll. (1959) ont multiplié les valeurs en azote total du cerveau, déterminées par la méthode de KJELDAHL par le coefficient 6,25 pour obtenir les taux de protéines. Il ressort par conséquent, de cette façon de procéder que l'azote se rencontre dans le cerveau de Rat uniquement sous forme d'azote protéique, ce qui est totalement faux. WAINIO & Coll., en dosant les protéines de cette façon dans des cerveaux de Rats soumis à une carence en protéines, ont conclu que la concentration en protéines demeurerait stable au cours de la carence. Cette conclusion n'est pas exacte, du fait que les taux de protéines ont été calculés en partant de la concentration en azote total; il serait donc plus juste de conclure qu'au cours de la carence protéique, la concentration en azote total ne subit aucune modification, ce qui est en accord avec les conclusions auxquelles nous avons abouti dans le paragraphe précédent.

CONCLUSION

Quel que soit le régime alimentaire auquel nous soumettons les rats adultes, jeûne protéique total ou inanition partielle, le poids frais ainsi que les concentrations en acide désoxyribonucléique, azote total et azote protéique du cortex cérébral demeurent constants. Par conséquent, nous pouvons conclure que le cortex cérébral, malgré la suppression des protéines dans la ration alimentaire ou la diminution de la prise d'aliment, conserve intacts le nombre de ses cellules et la masse de son protoplasme.

IV) LES ACIDES GLUTAMIQUE, GAMMA-AMINO BUTYRIQUE ET ASPARTIQUE LIBRES *

Si les constituants fondamentaux, ADN, azote total et protéines demeurent en concentration constante dans le cortex cérébral de Rat soumis à un jeûne protéique, qu'en est-il des acides aminés libres ? Nous n'allons pas étudier systématiquement tous les acides aminés, nous nous limiterons aux acides glutamique, gamma-aminobutyrique et aspartique.

D) INTRODUCTION

1) Les acides aminés libres du cerveau.

Le cerveau est particulièrement riche en acides aminés libres. L'acide glutamique est celui dont la concentration est la plus élevée; avec la glutamine, il représente jusqu'à 60% de l'azote α -aminé libre (Mc ILWAIN, 1966). L'acide gamma-aminobutyrique a été mis en évidence dans le cerveau de Mammifères par AWAPARA & Coll. (1950), ROBERTS & FRANKEL (1950) et UDENFRIEND (1950); en quantité relativement importante dans le système nerveux central et la moelle épinière, il n'existe qu'à l'état de traces dans les autres organes. Deux autres acides aminés se rencontrent également en quantités importantes dans le cerveau : ce sont l'acide aspartique et l'acide N-acétyl-aspartique. Les acides gamma-aminobutyrique et N-acétyl-aspartique sont des constituants caractéristiques du système nerveux central (Mc ILWAIN, 1966).

2) L'acide glutamique.

A) *Origine de l'acide glutamique.*

Si on augmente la concentration en acide glutamique du plasma en injectant cet acide aminé par voie intraveineuse à des Rats ou à des Souris (SCHWERIN & Coll., 1950), la concentration en acide glutamique du cerveau ne subit pas d'augmentation significative; la barrière sang-cerveau empêche le tissu cérébral de prélever l'acide glutamique dans le sang. La glutamine, par contre, peut facilement franchir cette barrière (SCHWERIN & Coll., 1950). Apparemment, seule la barrière sang-cerveau d'un animal adulte est capable de protéger ainsi le cerveau contre une augmentation de la concentration du sang en acide glutamique; les cerveaux d'organismes jeunes présentent en effet une plus grande perméabilité à l'égard de cet acide aminé que les cerveaux d'organismes adultes (HIMWICH & Coll., 1957).

Si le transport unidirectionnel du sang vers le cerveau est empêché par la barrière sang-cerveau, il existe néanmoins un processus d'échange bidirectionnel de sorte qu'une certaine quantité d'acide glutamique sanguin peut pénétrer dans le cerveau; cette quantité est cependant

* LEHR & GAYET (1966).

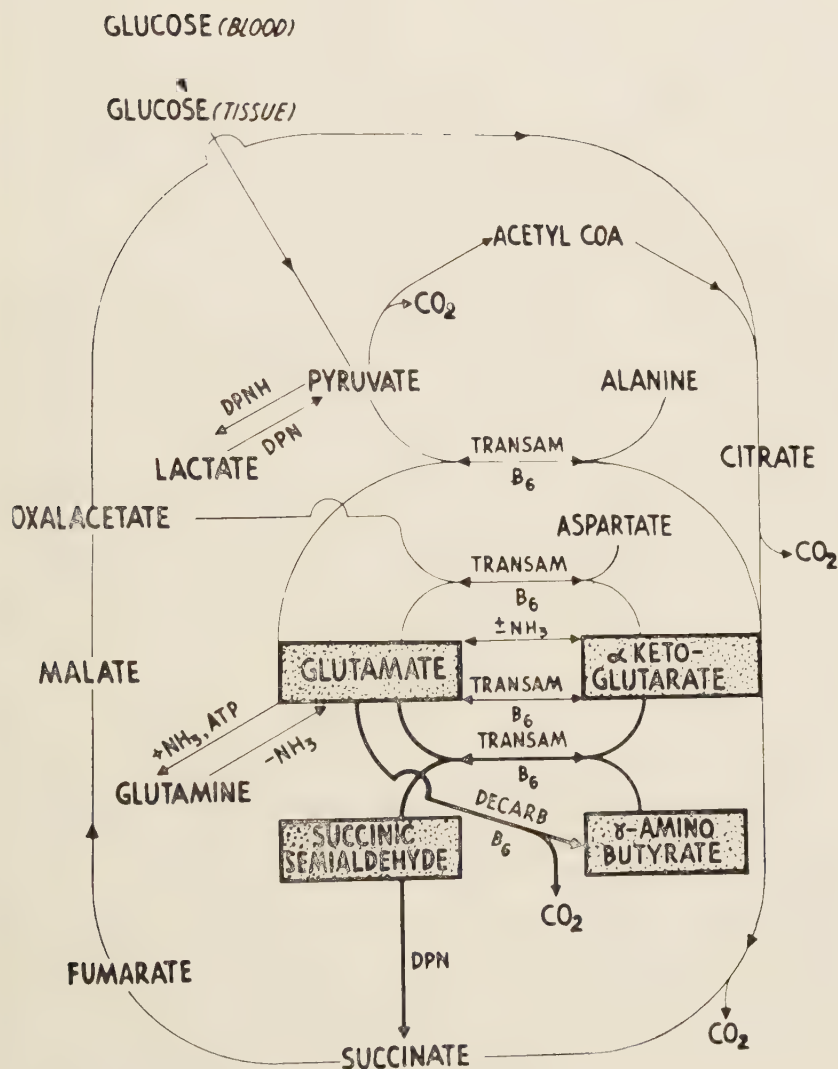


Fig. 2 - Relations métaboliques entre les principaux acides aminés et le cycle de l'acide tricarboxylique dans le système nerveux central. (ROBERTS & Coll., 1964).

très faible. Une injection intraveineuse d'acide glutamique uniformément marqué au ^{14}C à des Rats ou à des Souris adultes, entraîne en effet un marquage significatif de cet acide aminé dans le cerveau au bout de 5 minutes (LAJTHA & Coll., 1959); la pénétration se fait sous forme acide et non après conversion en glutamine. ROBERTS & Coll. (1959) ont démontré de leur côté que la notion de perméabilité de la barrière sang-cerveau à l'égard de l'acide glutamique, telle qu'elle a été émise par HIMWICH & Coll. (1957) n'est pas exacte; ils ont montré à l'aide d'une injection sous-cutanée d'acide glutamique ^{14}C , marqué au hasard, à des Souris nouveau-nées et à des Souris adultes que le flux de cet acide aminé du sang vers le cerveau est environ dix fois plus élevé chez l'adulte que chez le nouveau-né.

Le cerveau synthétise la majeure partie de son acide glutamique à partir du glucose qui lui est fourni par le sang. VRBA & Coll. (1962), en pratiquant une injection sous-cutanée de glucose uniformément marqué au ^{14}C à des Rats, retrouvent au bout de 20 minutes 72% du ^{14}C de la fraction acido-soluble dans les acides aminés libres du cerveau; la majeure partie de cette activité est située dans les acides aminés dicarboxyliques, acides glutamique et aspartique. Par ailleurs, en injectant par voie sous-cutanée, du glucose ^{14}C marqué au hasard à des Souris adultes et nouveau-nées, ROBERTS & Coll. (1959) ont pu montrer que la quantité d'acide glutamique cérébrale formée à partir du glucose est dix fois supérieure à celle qui pénètre dans le cerveau à partir du sang circulant. De ce fait, le système nerveux central est en opposition avec le foie par exemple, où les deux sources, acide glutamique et glucose sanguins, fournissent des quantités à peu près égales d'acide glutamique tissulaire (ROBERTS & Coll., 1959).

B) Métabolisme de l'acide glutamique

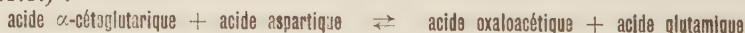
a) Réactions de transamination

Le squelette carboné de l'acide glutamique, sous forme d'acide α -céto-glutarique, provient du glucose, par l'intermédiaire du cycle de l'acide tricarboxylique (voir fig. 2). En ajoutant de l'acide α -céto-glutarique marqué au ^{14}C et de l'acide glutamique à un homogénat dialysé de cerveau de Rat, ALBERS & JAKOBY (1960) ont pu mettre en évidence une réaction de transamination directe qui est en fait une simple réaction d'échange :

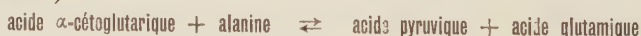


Cette réaction constitue donc une voie de passage de l'acide α -céto-glutarique à l'acide glutamique. Deux autres réactions de transamination font également intervenir l'acide glutamique et l'acide α -cétonique correspondant.

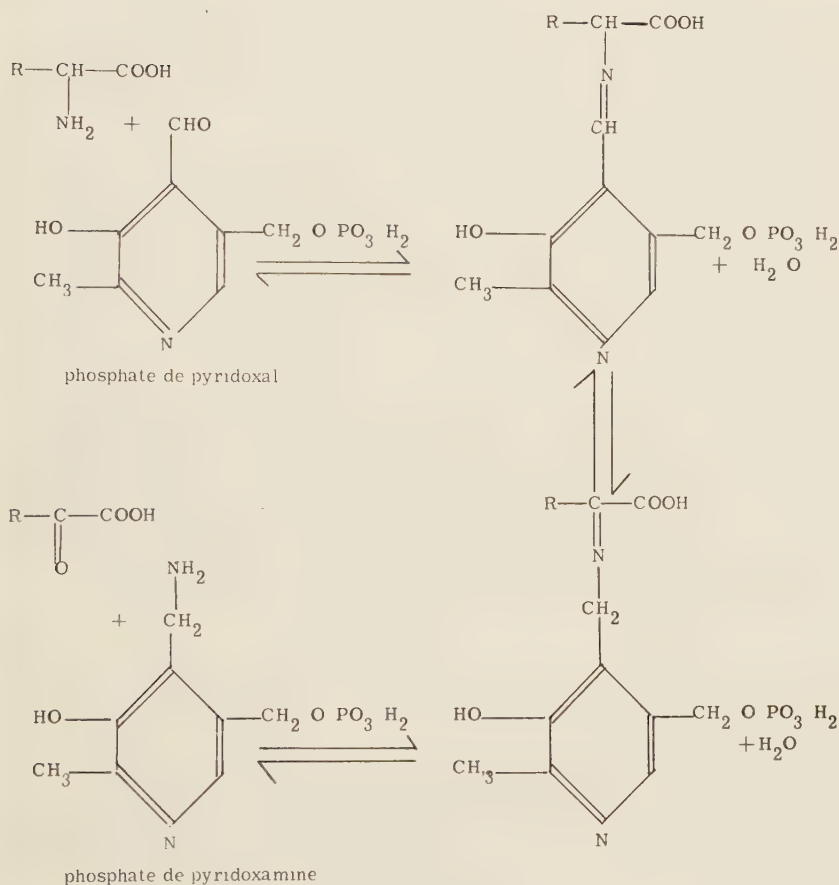
La première constitue la réaction de synthèse de l'acide aspartique; elle est catalysée par la transaminase glutamique - oxaloacétique (EC. 2.6.1.1.) :



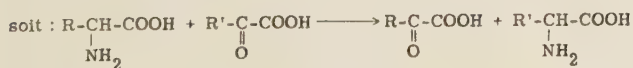
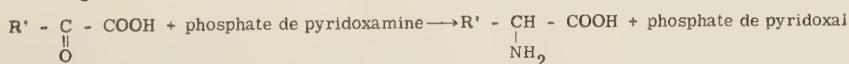
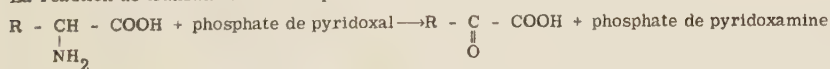
La seconde aboutit à la formation de l'alanine; l'enzyme intervenant dans cette réaction est la transaminase glutamique - pyruvique (EC. 2.6.1.2.) :



Le groupe actif de ces transaminases est constitué par un dérivé de la vitamine B₆, le phosphate de pyridoxal qui sert d'accepteur intermédiaire du groupement NH₂; le mécanisme d'action de ce coenzyme implique la transformation réversible pyridoxal $\rightleftharpoons$ pyridoxamine:



La réaction de transamination comprend en fait deux réactions :



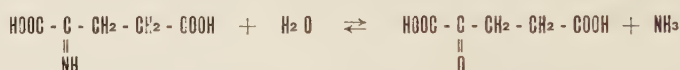
Ces deux enzymes, localisés d'une part dans la fraction soluble et d'autre part dans les mitochondries du tissu cérébral de Rat (SALGANICOFF & DE ROBERTIS, 1965), sont très actifs dans le système nerveux central.

b) Oxydation directe de l'acide glutamique.

L'oxydation de l'acide glutamique s'effectue en deux temps (Mc ILWAIN, 1966). Dans une première réaction anaérobie, catalysée par la L-glutamate déshydrogénase (EC. 1.4.1.2.), en présence de NAD^+ , nous obtenons de l'acide iminoglutarique.



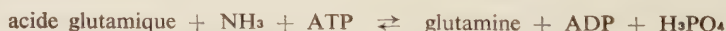
Cette réaction aboutit à un équilibre en présence de sels d'ammonium, équilibre qui est en faveur de l'acide glutamique : en effet, seulement 1,4% de cet acide aminé est oxydé à pH 7,4. Si maintenant, la concentration en ammoniacque baisse, l'acide iminoglutarique est hydrolysé spontanément en acide α -cétoglutarique et en ammoniacque.



Ces deux réactions étant réversibles, la L-glutamate déshydrogénase est responsable de l'un des mécanismes d'élimination de l'ammoniacque du système nerveux central (WAELESCHE, 1962 a), et, de ce fait, contribue à la formation d'acide glutamique à partir de l'acide α -cétoglutarique (WEIL - MALHERBE, 1962). La L-glutamate déshydrogénase est un enzyme mitochondrial (SALGANICOFF & DE ROBERTIS, 1965; BALAZS & Coll., 1966).

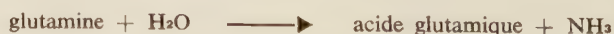
c) La glutamine

C'est cependant la formation de la glutamine qui constitue le mécanisme le plus important pour éliminer l'ammoniacque libre dans le système nerveux central. La synthèse de la glutamine s'effectue à partir de l'acide glutamique et de l'ammoniacque; cette réaction, catalysée par la glutamine synthétase (EC. 6.3.1.2.) nécessite un apport d'énergie sous forme d'ATP et la présence de sels de magnésium ou de manganèse.



La glutamine synthétase est localisée dans la fraction microsomale du tissu cérébral de Rat (SALGANICOFF & DE ROBERTIS, 1965); c'est un enzyme extrêmement actif au niveau du cerveau (TAKAGAKI & Coll., 1961).

L'hydrolyse de la glutamine, de son côté, ne nécessite pas d'apport énergétique; cette hydrolyse est catalysée par la glutaminase (EC. 3.5.1.2.), enzyme strictement mitochondrial (SALGANICOFF & DE ROBERTIS, 1965).

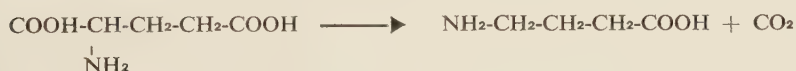


A noter que contrairement à l'acide γ -aminobutyrique et à l'acide glutamique, la glutamine est largement répandue dans la substance blanche et dans les cellules gliales (TOWER, 1960). Comme la glutamine est capable de traverser facilement la barrière sang-cerveau des animaux adultes, elle peut approvisionner le cerveau en ammoniacque et en acide glutamique, et constituer également une réserve pour ces deux substances.

Il ressort de ce qui précède que l'acide glutamique intervient pour une grande part dans l'élimination de l'ammoniacque, substance hautement toxique pour le cerveau. Cependant, malgré leur toxicité, les ions ammonium jouent un rôle de premier plan dans le système nerveux. Il est maintenant bien établi que l'activité nerveuse est accompagnée d'une libération d'ammoniacque et que la vitesse du processus est fonction de l'intensité de cette activité nerveuse. RICHTER & DAWSON (1948) ont en effet montré qu'une stimulation électrique du cerveau ou l'administration d'agents convulsifs provoque une augmentation de la concentration en ammoniacque du cerveau; cette dernière est abaissée dans les états d'anesthésie. D'où provient cette ammoniacque et quel en est le mécanisme de formation ? Une partie de l'ammoniacque provient des groupements amides liés aux protéines; l'activité fonctionnelle est donc associée à des modifications dans la structure des protéines tissulaires (VRBA, 1956; VRBA & Coll., 1957; WEIL-MALHERBE & DRYSDALE, 1957). D'après les études réalisées *in vitro*, certains composés puriques - acide adénylique, adénosine, guanine et guanosine - constituent également des sources d'ammoniacque (STRECKER, 1957; JORDAN & Coll., 1959).

d) Le « shunt » de l'acide γ -aminobutyrique

Dans le cerveau, l'acide glutamique par décarboxylation donne naissance à l'acide γ -aminobutyrique :

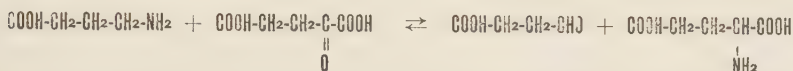


Cette réaction, irréversible, est catalysée par la décarboxylase de l'acide glutamique (E C. 4.1.1.15), enzyme qui a été mise en évidence dans le cerveau de Souris par ROBERTS & FRANKEL (1950). Comme les décarboxylases de l'acide glutamique des bactéries et des végétaux, elle requiert le phosphate de pyridoxal comme coenzyme (ROBERTS & FRANKEL, 1951 a). Celui-ci est synthétisé dans le cerveau à partir du pyridoxal en présence d'ATP (ROBERTS & FRANKEL, 1951 b).

Le groupement aldéhydrique du phosphate de pyridoxal participe, d'une part à l'attachement du coenzyme à l'apoenzyme, d'autre part réagit avec le substrat, l'acide glutamique dans le cas présent. (Voir schéma).

La décarboxylase de l'acide glutamique se rencontre uniquement dans le système nerveux central, et presque exclusivement dans la substance grise (ROBERTS, 1956).

Le cerveau renferme également une transaminase (E C. 2.6.1.19), dont le coenzyme est le phosphate de pyridoxal, et qui catalyse la transamination réversible de l'acide γ -aminobutyrique avec l'acide α -céto-glutarique, pour donner de l'acide glutamique et de l'hémialdéhyde succinique.



Cet enzyme, purement mitochondrial (SALGANICOFF & DE ROBERTIS, 1965; BALAZS & Coll., 1966), que l'on rencontre en quantité importante dans la substance grise du système nerveux central, est également répandu dans d'autres tissus comme le foie, contrairement à la décarboxylase de l'acide glutamique (ROBERTS, 1962).

L'hémialdéhyde succinique formé au cours de cette transamination est oxydé ultérieurement en acide succinique, à l'aide d'un enzyme mitochondrial (SALGANICOFF & DE ROBERTIS, 1965), la déshydrogénase de l'hémialdéhyde succinique (EC. 1.2.1.16).



La distribution subcellulaire de la décarboxylase de l'acide glutamique a été étudiée par de nombreux auteurs, mais il est difficile de comparer les résultats du fait de la variété des techniques employées.

En pratiquant une homogénéisation du cerveau de Rat dans du saccharose 0,32 M, en présence d'ions Ca^{++} , et en soumettant cet homogénat à un premier fractionnement, SALGANICOFF & DE ROBERTIS (1965) constatent que la fraction mitochondriale renferme plus de la moitié de l'enzyme, une partie non négligeable de ce dernier se situant par ailleurs dans la fraction soluble. En sous-fractionnant ensuite la fraction mitochondriale brute, ces mêmes auteurs notent qu'environ 90% de l'enzyme se situent dans les sous-fractions C et D renfermant les complexes synaptiques des terminaisons nerveuses, la concentration en enzyme étant d'ailleurs plus forte dans la fraction D, pauvre en acétylcholine. Selon SALGANICOFF & DE ROBERTIS (1965), la décarboxylase de l'acide glutamique est un enzyme essentiellement soluble, que l'on rencontre dans les terminaisons nerveuses où il serait fixé labilement aux vésicules synaptiques par l'intermédiaire des ions Ca^{++} . WEINSTEIN & Coll. (1963) avaient constaté également que la plus grande partie de l'enzyme sédimentable est associée à des fractions renfermant surtout des fragments des terminaisons nerveuses.

BALAZS & Coll. (1966) en sous-fractionnant la fraction mitochondriale brute à l'aide de la méthode de WHITTAKER (1959), constatent que l'enzyme se rencontre essentiellement dans la fraction B; celle-ci, dépourvue de mitochondries, renferme les particules des terminaisons nerveuses, auxquelles WHITTAKER (1965) a donné le nom de synaptosomes. Ces synaptosomes renferment les vésicules synaptiques contenant l'acétylcholine (WHITTAKER & SHERIDAN, 1965).

La décarboxylase de l'acide glutamique, contrairement à la transaminase de l'acide γ -aminobutyrique et de la déshydrogénase de l'hémialdéhyde succinique, n'est pas un enzyme mitochondrial. Comment expliquer alors la suite des réactions intervenant dans le « shunt » de l'acide γ -aminobutyrique, étant donné que SALGANICOFF & DE ROBERTIS (1965) ont constaté que la transaminase de l'acide γ -aminobutyrique et la déshydrogénase de l'hémialdéhyde succinique sont en quantités plus faibles dans les mitochondries provenant des terminaisons nerveuses que dans les mitochondries des soma des neurones ? BALAZS & Coll. (1966) émettent deux hypothèses : l'acide γ -aminobutyrique formé dans les terminaisons nerveuses, est distribué ensuite à travers tout le neurone, ou bien est transféré dans les neurones adjacents, pour être alors dégradé par les enzymes contenus dans les mitochondries des corps cellulaires.

e) Métabolisme de l'acide glutamique (cf. figure 2)

Comme les autres acides aminés, l'acide glutamique intervient d'une part dans la synthèse des peptides (glutathion) et des protéines, d'autre part, après transamination, dans le métabolisme des glucides et des lipides. Néanmoins, par sa forte concentration et par le nombre élevé des réactions auxquelles il participe, l'acide glutamique est l'acide aminé le plus important dans le système nerveux central : il constitue en fait un pivot dans le pool des acides aminés.

Dans les homogénats (HASLAM & KREBS, 1963) ou dans les préparations mitochondriales de cerveau de Rat (KREBS & BELLAMY, 1960; BALAZS, 1965 a), quand l'acide glutamique constitue le seul substrat, l'oxydation de ce dernier a lieu essentiellement (à 80-90%) par transamination avec l'acide oxaloacétique, l'acide α -cétoglutarique formé étant à son tour oxydé :



Dans le cas des homogénats (HASLAM & KREBS, 1963) environ 10% de l'acide glutamique est oxydé directement par la glutamate déshydrogénase; enfin moins de 10% de l'acide glutamique est décarboxylé en acide γ -aminobutyrique. Notons qu'il n'y a pas formation d'alanine. Le « shunt » de l'acide γ -aminobutyrique contribue donc au métabolisme oxydatif de l'acide glutamique dans une proportion inférieure à 10% dans le cas des homogénats (HASLAM & KREBS, 1963; Mc KHANN & Coll., 1960). Cette proportion est par contre d'environ 44% dans les coupes de cortex cérébral de Chat (Mc KHANN & Coll., 1960).

HASLAM & KREBS (1963) ont montré que l'adjonction d'acide pyruvique à des homogénats de cortex cérébral de Rat produit les effets suivants : la quantité d'acide glutamique métabolisée est réduite de 60% environ, la formation d'acide aspartique est réduite de 80%, enfin l'oxydation de l'acide glutamique en présence d'acide pyruvique se traduit par la formation d'alanine et par une augmentation de la concentration en acide α -cétoglutarique qui est multipliée par 10.

L'acide pyruvique inhibe donc la réaction de transamination de l'acide glutamique avec l'acide oxaloacétique, mais n'a pas d'effet sur l'acide glutamique qui est dégradé par les réactions autres que les réactions de transamination. Des observations identiques ont été faites par BALAZS (1965 b) sur des préparations mitochondriales de cerveau de Rat. HASLAM & KREBS (1963) et BALAZS (1965 b) ont essayé d'expliquer cette inhibition. D'une part, en présence d'acide pyruvique, l'acide oxaloacétique réagit de préférence avec l'acétylcoenzyme A pour donner naissance à l'acide citrique, ce qui entraîne une baisse de la concentration en acide oxaloacétique; d'autre part, il y a accumulation d'acide α -cétoglutarique et formation d'alanine par suite d'une réaction de transamination entre l'acide glutamique et l'acide pyruvique. Ces modifications dans les concentrations des acides α -cétoniques, acides oxaloacétique et α -cétoglutarique, semblent donc être à l'origine de l'inhibition de la réaction de transamination entre l'acide glutamique et l'acide oxaloacétique.

Les effets de l'acide pyruvique sur le métabolisme de l'acide glutamique dans les homogénats de foie (HASLAM & KREBS, 1963) ou dans les préparations mitochondriales hépatiques (BALAZS, 1965 b) diffèrent de ceux observés dans les homogénats ou les préparations mitochondriales de cerveau. Quand l'acide glutamique constitue le seul substrat ajouté à l'homogénat hépatique (HASLAM & KREBS, 1963), uniquement 69% de l'acide glutamique donne naissance à l'acide aspartique, le reste de l'acide glutamique est transformé en alanine (28%) et en acide α -cétoglutarique (3%). Il y a donc formation d'une quantité moins élevée d'acide aspartique et d'une quantité plus forte d'alanine dans les homogénats de foie que dans ceux de cerveau. Quand on ajoute de l'acide pyruvique à un homogénat hépatique, la quantité d'acide glutamique dégradée est augmentée de 60%; cette augmentation a également été observée par BALAZS (1965 b) sur les mitochondries de foie et elle semble due d'une part au fait que l'activité de la transaminase glutamique pyruvique est nettement plus élevée dans le foie que dans le cerveau, d'autre part au fait que l'activité de l'enzyme intervenant dans la synthèse de l'acide citrique à partir de l'acide oxaloacétique (citrate synthetase) est trois fois plus faible dans le foie que dans le cerveau. En présence d'acide pyruvique, la formation d'acide aspartique est abaissée alors que les concentrations en alanine et en acide α -cétoglutarique sont nettement augmentées; en d'autres termes, la transamination entre l'acide glutamique et l'acide pyruvique supplante la transamination entre l'acide glutamique et l'acide oxaloacétique.

En définitif, ce sont les différences dans les activités d'une part de la transaminase glutamique pyruvique, d'autre part de la citrate synthetase qui sont responsables de la différence observée dans le métabolisme de l'acide pyruvique ainsi que dans les concentrations en acide glutamique et en alanine dans les deux tissus.

Les résultats obtenus sur l'homogénat ou les mitochondries du cerveau laissent à penser que l'oxydation de l'acide glutamique par transamination avec l'acide oxaloacétique, dans le cerveau *in vivo*

en présence d'acide pyruvique provenant du glucose sanguin, est relativement faible.

Ainsi l'acide glutamique peut être maintenu à une concentration élevée dans le cerveau. Cependant, si la concentration en acide pyruvique baisse, dans le cas d'une hypoglycémie par exemple, l'oxydation de l'acide glutamique devient relativement importante; on constate en effet dans les cas d'hypoglycémie une réduction de la concentration en acide glutamique et un accroissement de la concentration en acide aspartique (DAWSON, 1953); dans ces cas d'hypoglycémie, l'acide glutamique remplace en partie le glucose comme substrat d'oxydation.

3) L'acide γ -aminobutyrique

A) *L'acide γ -aminobutyrique et la barrière sang-cerveau*

Comme la décarboxylase de l'acide glutamique se rencontre uniquement dans le système nerveux central, ce dernier constitue le seul lieu de formation de l'acide γ -aminobutyrique dans l'organisme des Mammifères. Bien qu'il existe cependant à l'état de traces dans les autres organes, il n'est pas évident que l'acide γ -aminobutyrique, formé dans le cerveau, puisse franchir facilement la barrière sang-cerveau et pénétrer dans le sang (ROBERTS, 1962). En pratiquant une injection intrapéritonéale d'acide γ -aminobutyrique à un Rat adulte, VAN GELDER & ELLIOTT (1958) ont constaté que l'acide γ -aminobutyrique, après avoir passé dans le sang, quitte très rapidement ce dernier; éliminé d'une part en quantités importantes dans l'urine, on le rencontre également en concentrations élevées dans les reins, le foie et les muscles. Par contre, la concentration de l'acide γ -aminobutyrique dans le cerveau n'a pas augmenté d'une façon significative; la barrière sang-cerveau empêche donc le passage de l'acide γ -aminobutyrique dans le cerveau à partir du sang. Une certaine quantité d'acide γ -aminobutyrique peut cependant pénétrer dans le cerveau à partir du sang circulant si on pratique une injection intracarotidienne d'acide γ -aminobutyrique à un Chat légèrement anesthésié (MARRAZZI & Coll., 1958); l'anesthésie semble donc modifier la barrière sang-cerveau. Le passage de l'acide γ -aminobutyrique s'effectue également aux endroits où la barrière sang-cerveau a été endommagée (PURPURA & Coll., 1958).

B) *Importance physiologique de l'acide γ -aminobutyrique*

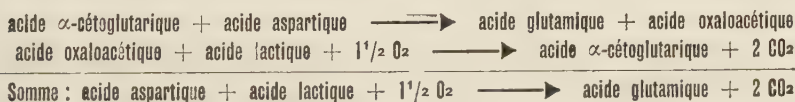
Des extraits de cerveau et de moelle épinière de Mammifères renferment un facteur qui bloque la transmission neuromusculaire chez l'Ecrevisse et qui inhibe les contractions spontanées ainsi que les contractions stimulées par l'acétylcholine de l'intestin de Cobaye et de Lapin (ELLIOTT & FLOREY, 1956). Ce facteur, dénommé «facteur I», a été identifié comme étant l'acide γ -aminobutyrique (BAZEMORE & Coll., 1957); ce dernier représente virtuellement toute l'activité du facteur I (LOVELL & ELLIOTT, 1963). L'acide glutamique, par contre, provoque la contraction des muscles de Crustacés (VAN HARREVELD, 1959). Il excite également fortement les neurones du cortex cérébral de Mammifères; on pense qu'il peut jouer un rôle dans la transmission nerveuse au niveau des synapses corticales (VAN HARREVELD, 1960; KRNJEVIC, 1964).

EDWARDS & KUFFLER (1959) ont étudié les relations entre la structure et l'activité inhibitrice de l'acide γ -aminobutyrique. Cette activité est liée à la présence des groupements terminaux NH_2 et COOH ; elle est optimale quand ces groupements sont séparés par 3 atomes de carbone, ce qui est le cas de l'acide γ -aminobutyrique. L'allongement ou le raccourcissement de la chaîne principale dont les groupements NH_2 et COOH constituent les extrémités, ainsi que l'adjonction de chaînes latérales entraînent une diminution de cette activité.

Des modifications importantes dans les réponses électriques du cortex cérébral de Chat après une application locale d'acide γ -aminobutyrique sur le cortex mis à nu (PURPURA & Coll., 1957) ou après une injection intracarotidienne faite sous anesthésie (MARRAZZI & Coll., 1958) semblent indiquer que cette substance peut jouer un rôle important dans la physiologie du cerveau. KRNJEVIC (1964) a démontré les effets inhibiteurs de l'acide γ -aminobutyrique en le déposant à l'aide d'une micropipette au voisinage des neurones corticaux. Selon ROBERTS & Coll. (1964) l'acide γ -aminobutyrique semble avoir une action inhibitrice au niveau des synapses. La localisation de la décarboxylase de l'acide glutamique dans les terminaisons nerveuses plaide en faveur de cette hypothèse. En considérant que cet enzyme est fixé aux vésicules synaptiques (SALGANICOFF & DE ROBERTIS, 1965) et que ces dernières sont des constituants présynaptiques (DE ROBERTIS & Coll., 1963), on peut supposer que l'acide γ -aminobutyrique agit au niveau présynaptique.

4) L'acide aspartique

L'acide aspartique joue dans le cerveau un rôle important dans le métabolisme des acides aminés. Plus de 80% de l'acide glutamique est en effet converti en acide aspartique dans les homogénats ou les préparations mitochondriales de cerveau (KREBS & BELLAMY, 1960; BALAZS, 1965 a). Inversement, si on ajoute de l'acide aspartique à un homogénat de cerveau renfermant une trace d'acide α -cétoglutarique et un substrat endogène qui constitue une source d'acétylcoenzyme A (acide lactique ou un triose phosphate par exemple), l'acide aspartique donnera naissance à de l'acide glutamique par transamination (KREBS & BELLAMY, 1960); la quantité d'acide glutamique formée est de l'ordre de 50% par rapport à la quantité d'acide aspartique dégradée.



Dans le cerveau, l'une des principales voies métaboliques de l'acide aspartique est sa conversion en acide N-acétyl-aspartique, substance qui a été mise en évidence pour la première fois dans le cerveau de Chat par TALLAN & Coll. (1956).

GOLDSTEIN (1959 a, b) a purifié partiellement à partir du tissu cérébral de Rat un enzyme, l'acétylase de l'acide aspartique (E C. 2.3.1.17), qui catalyse l'acétylation de l'acide aspartique par l'intermédiaire de l'acétylcoenzyme A pour former l'acide N-acétyl-aspartique;

GOLDSTEIN a proposé les réactions suivantes pour la biosynthèse de l'acide acétylaspartique dans le cerveau :

- (1) acétate + ATP $\rightleftharpoons$ acétyl-AMP + PP
- (2) acétyl - AMP + CoA - SH $\rightleftharpoons$ acétyl - CoA + AMP
- (3) acétyl - CoA + acide L-aspartique $\longrightarrow$ acide acétyl-aspartique + CoA-SH

Le rôle de l'acide N-acétyl-aspartique dans le cerveau demeure encore obscur. Des expériences de BUNATIEN & Coll. (1965) ont montré que l'acide N-acétyl-aspartique intervient dans les processus d'acétylation, en particulier dans la synthèse de l'acétylcholine et de l'acétylglucosamine à partir respectivement de la choline et de la glucosamine; dans ces réactions d'acétylation, l'acide N-acétyl-aspartique est aussi efficace que l'acétate libre. L'acide N-acétyl-aspartique intervient également en fournissant les groupements acétyl dans la synthèse des lipides cérébrales *in vivo* (D'ADAMO & YATSU, 1966).

II) TECHNIQUES

1) Extraction des acides aminés

Pour extraire les acides aminés libres du cortex cérébral de Rat, nous soumettons le tissu à l'action de l'éthanol à 75% (v/v) (PORCELLATI & THOMPSON, 1957; IRREVERRE & Coll., 1957); par ce traitement, les protéines ainsi qu'une grande partie des lipides sont précipitées, seuls subsistent des polypeptides de faible poids moléculaire.

Voici la méthode d'extraction telle que nous la préconisons. Par suite de la longueur de la manipulation, nous utilisons deux rats à chaque expérience. Après décapitation de ces rats, nous prélevons en chambre froide à + 2°C, le cortex provenant de l'hémisphère cérébral gauche du premier et celui provenant de l'hémisphère cérébral droit du deuxième; les deux demi-cortex sont pesés, congelés au contact d'une plaque à neige carbonique, puis homogénéisés dans un appareil de POTTER-ELVEHJEM, en présence de 5 ml d'éthanol à 75%. A ces 5 ml d'homogénat, versés dans un tube à centrifuger, on ajoute 10 ml d'éthanol à 75%. Après une centrifugation à 4000 g pendant 25 minutes, on obtient un liquide surnageant limpide et incolore. Le sédiment est ensuite lavé à l'aide de 5 ml d'éthanol à 75%. Après une nouvelle centrifugation, on recueille le liquide surnageant qui est ajouté à celui obtenu précédemment.

Pour déminéraliser ensuite l'extrait alcoolique, et éliminer par la même occasion les différentes substances qui pourraient gêner la suite des opérations, en particulier les polypeptides, on fait passer cet extrait sur une colonne de résine échangeuse de cations (résine polystyrène sulfonée - SO₃H, type Amberlite IR 120, sous forme hydrogène). Les acides aminés sont fixés sur cette colonne de résine, à l'exception de la taurine (BISERTE & Coll., 1958). Dans le cas présent, nous utilisons une colonne de 2 g de résine Amberlite IR 120 analytique Prolabo. Après avoir fait passer sur cette colonne le liquide surnageant précédemment obtenu (20 ml), on lave la colonne successivement à l'aide de 5 ml d'éthanol à 75% et de 30 ml d'eau bidistillée. La résine est ensuite éluée par 45 ml d'ammoniaque 3N. BISERTE & Coll. (1958)

ainsi que HAN (1961) ont montré que l'ammoniaque 2N élue tous les acides aminés libres et les peptides, fixés par l'Amberlite IR 120. L'éluat est alors réduit à sec dans un évaporateur rotatif sous vide, le ballon contenant l'éluat plongeant dans un bain marie à 40°C. Après assèchement total, on reprend le résidu par 1,5 ml d'isopropanol à 10% (v/v); c'est sur cette solution jaunâtre ainsi obtenue, que nous dénommons « Extrait », que nous effectuerons les études électrophorétiques et chromatographiques ultérieures.

2) Séparation des acides aminés

Pour séparer les différents acides aminés contenus dans l'extrait, nous avons utilisé les techniques électrophorétiques et chromatographiques décrites par BISERTE & Coll. (1958), BISERTE & Coll. (1960) et HAN (1961).

A) Fractionnement de base des acides aminés

Pour effectuer des essais de concentration, et également pour avoir un aperçu général de la composition en acides aminés de l'extrait, nous pratiquons une électrophorèse en petite dimension à pH 3,9.

Celle-ci s'effectue dans un appareil « en toit » (type DURRUM) en chlorure de polyvinyle sur papier Arches N° 304 (40x28 cm), sous une tension de 380 volts, pendant 3 à 4 heures; on utilise un tampon à pH 3,9 ayant la composition suivante : pyridine - acide acétique - eau (30 : 100 : 4870). Le sens de la migration se fait dans le sens de la plus grande dimension, du pôle + au pôle —, le point de départ se situant à 12 cm du bord anodique.

Après électrophorèse, la feuille est séchée puis révélée à l'aide du réactif à la ninhydrine dont nous reparlerons dans la partie consacrée au dosage. Cette électrophorèse permet de séparer l'acide aspartique, l'acide glutamique, les acides aminés à comportement neutre, l'acide γ -aminobutyrique et les acides aminés à comportement basique.

B) Séparation des acides glutamique, aspartique et γ -aminobutyrique.

Pour séparer et doser les acides dicarboxyliques (aspartique et glutamique) et l'acide γ -aminobutyrique, nous couplons une électrophorèse à pH 3,9 en grande dimension et une chromatographie descendante dans le système n-butanol - acide acétique - eau.

a) Electrophorèse pH 3,9

L'électrophorèse se fait dans un appareil « en toit » (type DURRUM) de grande dimension, sur papier Whatman N° 1 (57x46 cm). La migration se fait dans le sens de la plus grande dimension, du pôle + au pôle —, sous une tension de 380 volts, pendant 15 heures.

L'extrait (15 ou 30 μ l suivant le cas) est déposé en un point situé à 20 cm du bord anodique et à 10 cm de l'autre bord.

b) Chromatographie descendante

Après séchage de la feuille à la température ambiante pendant environ 24 heures, on pratique en deuxième dimension, donc perpendiculairement au sens de la migration électrophorétique, une chromatographie descendante dans le système n-butanol - acide acétique - eau (4 : 1 : 5); la durée de cette chromatographie est de 24 heures.

La feuille, séchée, est révélée à l'aide du réactif à la ninhydrine; nous constatons alors (fig. 3) que les acides aspartique, glutamique et γ -aminobutyrique apparaissent nettement séparés sur l'électrochromatogramme.



Fig. 3 - Reproduction photographique d'un électrochromatogramme réalisé à partir de 30 μ l d'extrait, provenant

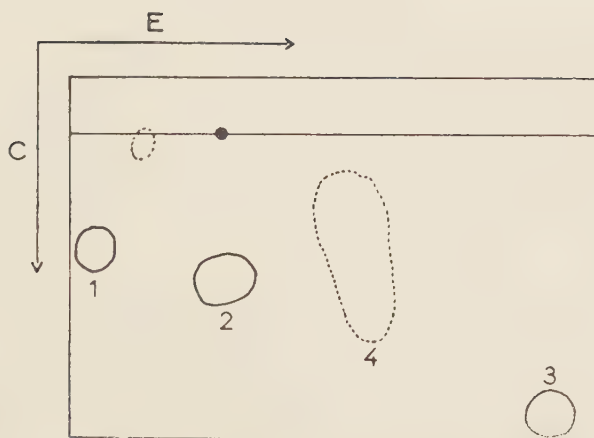


Fig. 4 - Diagramme explicatif de la figure 3

Désignation des taches : 1 = acide aspartique; 2 = acide glutamique; 3 = acide γ -aminobutyrique; 4 = acides aminés neutres. La flèche E désigne la direction de la migration électrophorétique à pH 3,9; la flèche C désigne la direction de la migration chromatographique. ● = dépôt

3) Dosage des acides aminés

Les électrochromatogrammes séchés à la température ambiante pendant 2 à 3 jours dans une atmosphère privée d'ammoniac, sont immergés complètement dans le réactif à la ninhydrine, dont voici la composition: ninhydrine à 1% (p/v) dans l'acétone contenant 10% (v/v) de tampon phosphate 0,05 M de pH 7 (Na_2HPO_4 6,390 g/litre et acide citrique 960 mg/litre).

Les feuilles sont ensuite égouttées et séchées pendant 30 minutes en atmosphère privée d'ammoniac jusqu'à l'apparition nette des taches correspondant aux acides aminés, puis placées à l'étuve à 37°C pendant 15 heures.

La surface englobant la totalité de la coloration correspondant à l'acide aminé à doser, ainsi qu'une surface voisine de mêmes dimensions servant de « blanc », sont découpées et éluées par 6 ml d'acétone contenant 25% d'eau, sous agitation discontinue pendant 20 minutes. L'intensité de la coloration de ces solutions est évaluée, dans l'heure qui suit l'élué, au photomètre SPEKKER - HILGER (filtre N° 6, cuves de 1 cm de section) ou au spectrophotomètre JOBIN et YVON à 575 μ . Les valeurs en densité optique obtenues pour chaque acide aminé par lecture au photomètre ou au spectrophotomètre, sont rapportées à une courbe de référence préalablement établie pour chaque acide aminé correspondant. Ces courbes de référence sont construites à partir de quantités déterminées (0 à 20 μ g) de chaque acide aminé en suivant les conditions expérimentales décrites ci-dessus.

III) RESULTATS ET DISCUSSION

1) Rats témoins

Nous avons dosé les acides aspartique, glutamique et γ -aminobutyrique sur 12 Rats témoins; les valeurs figurant au tableau 5 sont évaluées en μ moles par gramme de tissu frais. Le poids moyen de ces rats au moment de leur décapitation était de 342 g alors que le poids moyen du cortex cérébral était de 0,974 g.

Tableau 5 - Concentrations des acides aspartique, glutamique et γ -aminobutyrique libres dans le cortex cérébral de Rats soumis à différents états nutritionnels. (Le nombre de dosages effectués est indiqué entre parenthèses).

Etat nutritionnel	Acides aminés libres (μ moles/g. tissu frais)		
	Acide aspartique	Acide glutamique	Acide γ -aminobutyrique
1) Rats témoins — 12 —	2,02 $\pm$ 0,15 (26)	8,20 $\pm$ 0,24 (34)	1,67 $\pm$ 0,08 (38)
2) Rats au jeûne protéique			
14 jours — 6 —	2,04 $\pm$ 0,06 (12)	8,81 $\pm$ 0,19 (12)	1,80 $\pm$ 0,09 (13)
27 jours — 4 —	1,64 $\pm$ 0,10 (7)	8,90 $\pm$ 0,10 (6)	1,73 $\pm$ 0,08 (8)
34 jours — 4 —	1,70 $\pm$ 0,35 (10)	9,39 $\pm$ 0,16 (11)	1,94 $\pm$ 0,06 (10)
50 jours — 2 —	1,58 $\pm$ 0,07 (4)	8,86 $\pm$ 0,07 (4)	1,73 $\pm$ 0,05 (3)
66 jours — 6 —	1,48 $\pm$ 0,17 (12)	8,16 $\pm$ 0,20 (11)	1,69 $\pm$ 0,07 (12)
3) Rats en inanition partielle			
31 jours — 6 —	2,01 $\pm$ 0,09 (10)	9,50 $\pm$ 0,19 (9)	1,86 $\pm$ 0,08 (12)
54 jours — 4 —	1,98 $\pm$ 0,05 (7)	10,00 $\pm$ 0,14 (6)	1,91 $\pm$ 0,08 (6)
59 jours — 4 —	2,00 $\pm$ 0,09 (7)	9,70 $\pm$ 0,19 (7)	2,01 $\pm$ 0,08 (6)
105 jours — 8 —	1,90 $\pm$ 0,10 (20)	9,12 $\pm$ 0,22 (17)	1,95 $\pm$ 0,08 (17)

Après extraction à l'acide trichloracétique à 5% glacé, BERL & WAELSCH (1958) ont séparé les acides glutamique et γ -aminobutyrique à l'aide de colonnes d'alumine et de résine échangeuse d'ions (Dowex 50); ainsi séparés, les acides aminés, en vue du dosage, sont convertis successivement en γ -lactones et en acides hydroxamiques correspondants, lesquels, à l'aide du réactif au chlorure ferrique donnent une coloration dont on peut déterminer l'intensité au spectrophotomètre à 540 m μ . Ces auteurs, grâce à cette technique, ont évalué les concentrations des deux acides aminés dans les différentes parties du cerveau de Rat normal; pour le cortex ils obtiennent les valeurs suivantes : (en μ moles/g de tissu)

acide glutamique	10,4 - 12,5 moyenne 11,6
acide γ -aminobutyrique	1,5 - 2,7 moyenne 2,0

ROBERTS (1963), de son côté, a dosé les acides glutamique, aspartique et γ -aminobutyrique dans le cortex cérébral de Rat, de la façon suivante : extraction des acides aminés à l'aide d'acide trichloracétique à 5% glacé, passage sur colonne de résine Dowex 2 pour éli-

miner l'acide trichloracétique, enfin dosage par chromatographie sur colonne à l'aide d'un appareil automatique d'analyse des acides aminés. Voici les valeurs obtenues dans le cas de rats témoins (en μ moles/g de tissu) :

acide glutamique	$13,375 \pm 0,920$
acide aspartique	$3,643 \pm 0,304$
acide γ -aminobutyrique	$1,923 \pm 0,069$

Pour les acides glutamique et aspartique, nous obtenons donc des valeurs inférieures à celles indiquées par BERL & WAELSCH (1958) et ROBERTS (1963); par contre, pour l'acide γ -aminobutyrique, elles sont à peu près identiques. Néanmoins, notre déviation standard correspondant à chacun des acides aminés est généralement plus faible que celle obtenue par ces auteurs, ce qui confirme la reproductibilité des techniques employées. D'ailleurs, d'une technique à l'autre, les valeurs obtenues sont souvent très différentes. Ainsi, pour la concentration en acide glutamique du cerveau total de Rat normal, on passe de 8,20 (KNAUFF & BÖCK, 1961) à 10,10 μ moles/g de tissu (MANDEL & MARK, 1965).

IRREVERRE & Coll. (1957), pour extraire les acides aminés de tissus végétaux et animaux, et en particulier du cerveau de Mammifères, conservaient les homogénats tissulaires dans la glace à $+ 4^{\circ}\text{C}$ pendant une nuit. Nous avons effectué cette même expérience sur le cortex cérébral de Rat et n'avons noté aucune modification dans les concentrations des trois acides aminés. Par contre, si nous supprimons la congélation des tissus au contact de la neige carbonique après leur prélèvement, nous constatons que les concentrations des trois acides aminés et en particulier de l'acide glutamique, augmentent nettement. Nous obtenons ainsi (en μ moles/g de tissu) : 2,14 pour l'acide aspartique, 9,30 pour l'acide glutamique et 1,75 pour l'acide γ -aminobutyrique

2) Rats au jeûne protéique

Dans ces expériences, nous avons utilisé 22 rats dont voici le poids moyen au moment de la décapitation: 222 g après 14 jours de jeûne (6 rats), 172 g après 27 jours (4 rats), 181 g après 34 jours (4 rats), 138 g après 50 jours (2 rats) et 140 g après 66 jours (6 rats). On n'observe pas de variation du poids du cortex cérébral au cours de ces traitements : le poids moyen est de 0,900 g.

En nous référant au tableau 5, nous constatons que chaque acide aminé se comporte différemment au cours de ce jeûne protéique total. La concentration de l'acide aspartique décroît régulièrement; au bout de 66 jours de jeûne protéique total, elle a baissé de 27% par rapport à la valeur moyenne chez les rats témoins. Quant à l'acide glutamique, après un accroissement de la concentration allant jusqu'à 15% vers le 34^e jour, on assiste à un retour à la valeur normale vers le 66^e jour. L'acide γ -aminobutyrique enfin, demeure à peu près constant au cours de cette carence protéique.

RAJALAKSHMI & Coll. (1965) ont soumis des rats âgés respectivement de 1, 6 et 12 mois à des régimes renfermant 9 et 11% de protéines; nous sommes donc ici en présence d'une carence partielle en protéines. En dosant alors les acides aspartique, glutamique et γ -aminobutyrique dans le cerveau total de ces animaux, ils ont observé une baisse significative du taux de ces acides aminés par rapport aux animaux témoins.

MANDEL & MARK (1965) de leur côté, en soumettant des rats à un jeûne protéique de 3 à 6 semaines constatent que les acides aminés dans le cerveau et le cervelet ne réagissent pas de la même façon. Si l'on rapporte les concentrations, en μ moles, au gramme de tissu frais, l'acide aspartique subit une baisse significative alors que l'acide glutamique et l'acide γ -aminobutyrique demeurent constants.

3) Rats en inanition partielle

Dans ces expériences, nous avons également utilisé 22 rats dont voici le poids moyen au moment de la décapitation : 216 g après 31 jours de restriction alimentaire (6 rats), 192 g après 54 jours (4 rats), 193 g après 59 jours (4 rats) et 160 g après 105 jours (8 rats). Le poids moyen du cortex était de 0,901 g.

Dans le cas présent, le comportement des acides aminés n'est pas identique à celui observé au cours du jeûne protéique. Le taux en acide aspartique est pratiquement constant au cours de l'inanition partielle. La concentration en acide glutamique subit une augmentation importante jusqu'au 54^e jour environ. Elle dépasse alors la valeur normale de 22%; par la suite elle diminue progressivement; toutefois, au bout de 105 jours de restriction, elle est encore supérieure de 11% à la concentration moyenne des rats témoins. Enfin, l'acide γ -aminobutyrique, tout en demeurant à peu près constant au cours de l'inanition partielle, présente une valeur qui dépasse néanmoins de 16% environ la valeur déterminée chez les rats normaux.



V) LA DÉCARBOXYLASE DE L'ACIDE GLUTAMIQUE *

Dans le chapitre précédent, nous avons constaté une variation de la concentration en acide glutamique dans le cortex cérébral, chez le Rat soumis à un jeûne protéique ou à une inanition partielle; la concentration en acide γ -aminobutyrique de son côté, demeure stable dans les cas de carence protéique, mais subit une augmentation dans les cas d'inanition partielle. Partant de ces constatations, il nous a paru intéressant d'étudier l'activité de la décarboxylase de l'acide glutamique (E.C. 4.1.1.15) dans le cortex cérébral chez les rats recevant une nourriture dépourvue de protéines et chez ceux soumis à une inanition partielle.

I) INTRODUCTION

Avant de décrire la technique que nous avons utilisée pour déterminer l'activité de la décarboxylase de l'acide glutamique, il est utile de résumer brièvement les propriétés essentielles de cet enzyme.

1) Rôle du phosphate de pyridoxal

Le phosphate de pyridoxal, coenzyme de la décarboxylase de l'acide glutamique, intervient dans la réaction de décarboxylation par l'intermédiaire du groupement aldéhydique; ce dernier réagit avec le substrat, l'acide glutamique dans le cas présent (cf. chapitre IV).

Ce groupement aldéhydique peut également réagir avec un certain nombre de substances, qui empêchent alors le substrat de s'attacher à l'enzyme; parmi les composés chimiques qui inhibent ainsi la décarboxylase de l'acide glutamique, il faut citer l'hydroxylamine et la semicarbazide (ROBERTS & FRANKEL, 1951 a). Le phosphate de pyridoxal est très labilement attaché à l'apoenzyme. Des expériences *in vitro* ont en effet montré que le coenzyme peut être très facilement séparé de la protéine; inversement, l'activité enzymatique peut être restaurée par simple addition de phosphate de pyridoxal (ROBERTS & EIDELBERG, 1960). Le phosphate de pyridoxal est enfin un coenzyme hautement spécifique; ainsi le pyridoxal, la pyridoxine, la 4-désoxypyridoxine, la 4-méthoxy-méthylpyridoxine et la pyridoxamine sont inactifs (ROBERTS & FRANKEL, 1951 b).

* GAYET & LEHR (1963).

2) Importance du groupement thiol

Le groupement aldéhydique du coenzyme est lié à la protéine par un groupement amine et un groupement thiol, l'atome de soufre de ce dernier étant situé entre le carbone de l'aldéhyde et le groupement hydroxyle du noyau pyridine dont l'atome d'azote est chargé positivement (ROBERTS & Coll., 1964) (fig. 5).

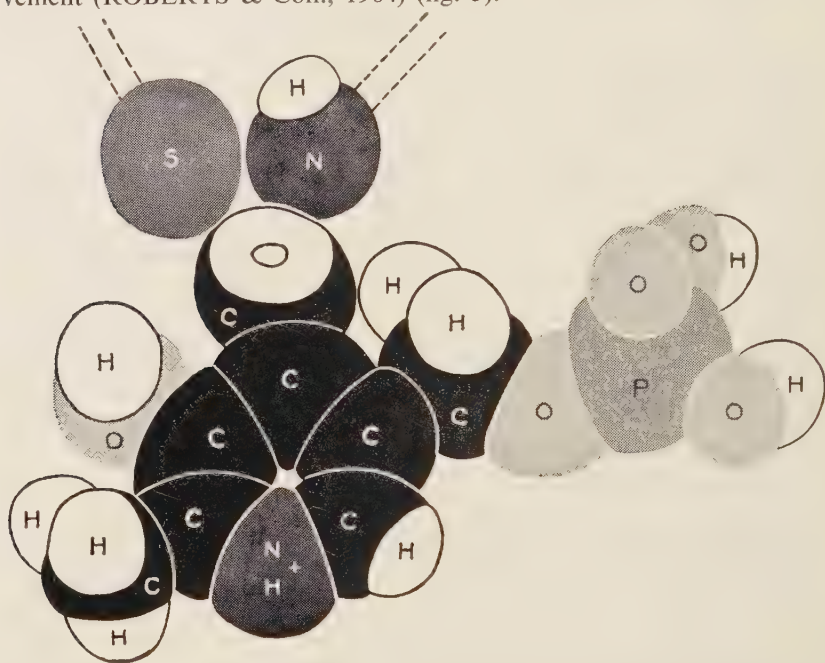


Fig. 5 - (d'après ROBERTS & Coll. 1964)

Liaison phosphate de pyridoxal - apoenzyme (l'atome d'oxygène du groupement aldéhydique a été omis pour montrer l'emplacement de l'atome de carbone par rapport aux atomes de soufre et d'azote)

Selon ROBERTS & SIMONSEN (1963) le groupement thiol joue un rôle important dans l'activité de la décarboxylase de l'acide glutamique. Ces auteurs ont montré en effet que l'enzyme, en solution, perd jusqu'à 80% de son activité au bout d'une heure. Cette baisse d'activité que l'on peut empêcher en ajoutant du glutathion réduit, de la cystéine ou du phosphate de pyridoxal, semble due à une oxydation des groupements SH de l'enzyme par l'oxygène. Quand les expériences sont effectuées en atmosphère d'azote pur ou en atmosphère 95% N₂ - 5% CO₂, l'activité enzymatique est toujours supérieure à celle obtenue quand l'expérience est effectuée dans l'air; cette dernière valeur est d'ailleurs encore réduite de 50% si on pratique l'expérience en présence d'oxygène pur.

3) Spécificité de l'enzyme

La décarboxylase de l'acide glutamique du cerveau présente un haut degré de spécificité à l'égard du substrat : l'acide L- glutamique est le seul acide aminé rencontré à l'état naturel à être attaqué par cet enzyme (ROBERTS & FRANKEL, 1951 b). L'acide D- glutamique n'est pas décarboxylé par l'enzyme (ROBERTS & SIMONSEN, 1963).

4) Influence du pH

Le pH optimum d'activité de la décarboxylase de l'acide glutamique du cerveau, en présence de tampon bicarbonate ou de tampon phosphate, est compris entre 6,4 et 6,5 (ROBERTS & FRANKEL, 1951 b; ROBERTS & SIMONSEN, 1963). Cet enzyme cérébral diffère de toutes les autres décarboxylases par son pH optimum. Il est en effet compris entre 4,5 et 5 pour la décarboxylase de l'acide glutamique des bactéries (GALE, 1946, cité par ROBERTS & FRANKEL, 1951 b), entre 5,3 et 5,9 pour la décarboxylase de l'acide glutamique des végétaux (SCHALES & SCHALES, 1946, cités par ROBERTS & FRANKEL 1951 b) et entre 7 et 9 pour les autres décarboxylases animales (BLASCHKO, 1945, cité par ROBERTS & FRANKEL, 1951 b).

5) Purification de l'enzyme

Des essais de purification de l'enzyme sont demeurés longtemps sans succès par suite d'une part de l'insolubilité (ROBERTS & FRANKEL, 1951 b), d'autre part de la labilité de l'enzyme (SUSZ & Coll., 1966). Ces derniers auteurs sont parvenus à un certain degré de purification de la décarboxylase de l'acide glutamique de cerveaux de Souris en stabilisant l'enzyme à l'aide de phosphate de pyridoxal et de bromure d'aminoéthylisothiuronium (AET).

II) TECHNIQUES

1) Principe

Si nous voulons déterminer l'activité de la décarboxylase de l'acide L-glutamique sur des homogénats de cortex cérébral de Rat, il est nécessaire de travailler en présence d'un excès d'acide glutamique et d'un excès de phosphate de pyridoxal; dans ces conditions, les quantités de CO₂ dégagées sont proportionnelles, d'une part au temps, d'autre part à la quantité d'enzyme employé (ROBERTS & FRANKEL, 1951 a). Nous avons donc évalué l'activité de cet enzyme selon la méthode manométrique de ROBERTS & FRANKEL (1951 a), en nous référant aux conditions expérimentales décrites par GONNARD & FENARD (1962).

2) Mode opératoire

A) Préparation de l'homogénat

Après décapitation du Rat, le cortex cérébral est prélevé en chambre froide (+ 2° C), pesé, puis homogénéisé à l'aide de l'appareil de POTTER-ELVEJHEM en présence de tampon phosphate SØRENSEN M/15, pH 6. De l'homogénat (10 ml), nous prélevons pour chaque mesure 1,5 ml, ce qui correspond en moyenne à 140 mg de tissu frais.

B) Réactifs

- a) Solution tampon phosphate SØRENSEN M/15, pH 6.
- b) Solution de L-glutamate de Na

Au glutamate de Na on ajoute de la solution tampon phosphate pH 6 afin d'obtenir une concentration de 100 mg/ml en acide glutamique; la solution ainsi obtenue est ajustée exactement à pH 6.

c) Solution de phosphate de pyridoxal.

Elle est préparée extemporanément dans la solution tampon pH 6 à la concentration de 20 µg par fiole soit 20 µg pour 140 mg de tissu frais.

d) Acide sulfurique environ 2N.

C) *Mesure*

Pour effectuer les mesures, nous utilisons des fioles de Warburg à deux appendices latéraux. On verse :

dans le 1^{er} appendice : 0,4 ml de la solution de glutamate de Na

dans le 2^e appendice : 0,3 ml H₂SO₄ 2N.

dans l'espace principal : 1,5 ml d'homogénat + 0,8 ml de la solution de phosphate de pyridoxal.

Les fioles étant placées dans le bain marie à 37°C, on y fait circuler de l'azote (pureté de l'azote : 99,995%) pendant 10 minutes afin d'éliminer toute trace d'oxygène. La solution de glutamate de Na est alors versée dans l'espace principal : c'est le temps zéro. A partir de cet instant, on évalue, toutes les 10 minutes pendant une heure, le dégagement de CO₂. A la fin de l'expérience, on verse la solution d'acide sulfurique dans l'espace principal à titre de contrôle.

III) RESULTATS

Dans le tableau 6 figurent les valeurs de l'activité enzymatique, rapportées à 100 mg de cortex frais, et exprimées en µl de CO₂ dégagés par décarboxylation de l'acide L-glutamique; le tableau 7, de son côté, indique cette même activité en quantités d'acide L-glutamique décarboxylé en une heure d'expérience par rapport à 100 mg de cortex frais, au phosphore de l'ADN et à l'azote protéique tissulaire.

Tableau 6 - Nombre de µl de CO₂ dégagés par décarboxylation de l'acide L-glutamique en 1 heure d'expérience. (Température 37°C; pH 6,0; N₂ à 99,995%; pyridoxal-5-phosphate 20 µg par fiole)

Etat nutritionnel	Nbre de Rats	Nbre de mesures	µl CO ₂ dégagés/ 100 mg de cortex frais	Augmen- tation en %
1) Rats témoins	5	21	54,72 ± 3,09	
2) Rats au jeûne protéique				
9 jours	2	9	59,39 ± 2,80	8,5
15 jours	2	9	61,35 ± 3,08	12,1
30 jours	4	18	62,16 ± 3,81	13,6
70 jours	4	18	66,50 ± 4,05	21,5
3) Rats en inanition partielle				
54 jours	2	9	57,15 ± 2,26	4,5
80 jours	2	10	59,00 ± 3,37	7,8

Tableau 7 - Quantité d'acide L-glutamique (en mg) décarboxylée en 1 heure d'expérience (température 37° C; pH 6,0; N₂ à 99,995%; pyridoxal-5-phosphate 20 µg par fiole).

Etat nutritionnel	Acide glutamique (en mg)		
	pour 100 mg de cortex frais	pour 1 mg P - ADN	pour 1 mg N protéique
1) Rats témoins	0,359 ± 0,020	66,5 ± 3,7	0,248 ± 0,014
2) Rats au jeûne protéique			
9 jours	0,390 ± 0,018	68,5 ± 3,1	0,265 ± 0,012
15 jours	0,403 ± 0,020	71 ± 3,5	0,274 ± 0,013
30 jours	0,408 ± 0,025	71,6 ± 4,3	0,277 ± 0,017
70 jours	0,437 ± 0,026	76,7 ± 4,5	0,297 ± 0,018
3) Rats en inanition partielle			
54 jours	0,375 ± 0,015	66 ± 2,6	0,253 ± 0,010
80 jours	0,387 ± 0,022	68 ± 3,8	0,261 ± 0,015

Chez les Rats soumis à une inanition partielle, l'activité de l'enzyme n'augmente que très légèrement : 7,8% au 80ème jour de traitement. Dans le cas du jeûne protéique total, par contre, l'activité de la décarboxylase subit une nette augmentation : 21,5% au 70ème jour de carence. Il est difficile d'expliquer ces variations d'activité enzymatique.

Des expériences réalisées sur la décarboxylase de l'acide glutamique de cerveau de Souris, en ajoutant un excès de phosphate de pyridoxal à la préparation enzymatique, permettent une estimation de la quantité totale d'apoenzyme présent dans le tissu (ROBERTS & Coll., 1951). Ces auteurs ont constaté que chez des Souris soumises à un régime déficient en vitamine B₆, la concentration en apoenzyme du cerveau demeure normale. Par contre, on assiste à une baisse approximative de 50% du degré de saturation de l'apoenzyme par le coenzyme. Pour déterminer ce degré de saturation de l'apoenzyme, il serait nécessaire d'effectuer les expériences en absence totale de phosphate de pyridoxal ajouté.

Nous avons effectué des essais de dosage d'activité enzymatique en n'ajoutant pas de phosphate de pyridoxal à l'homogénat; les dégagements de CO₂ obtenus étaient faibles. Dans ce cas, la méthode manométrique ne permet pas de déterminer avec suffisamment de précision l'activité de l'enzyme.

Pour pouvoir mener à bien ces mesures d'activité enzymatique, il faudrait doser non pas le CO₂ formé au cours de la réaction, mais l'acide γ-aminobutyrique dans le milieu réactionnel. A partir de la quantité d'acide γ-aminobutyrique formé au bout d'une heure, nous pourrions connaître la quantité d'acide glutamique décarboxylée en tenant compte qu'une molécule d'acide glutamique donne naissance à une molécule d'acide γ-aminobutyrique.

VI) INCORPORATION DU CARBONE DU GLUCOSE (U-¹⁴C) DANS LES ACIDES AMINÉS LIBRES.*

Avant d'approfondir l'étude de l'influence du jeûne protéique et de l'inanition partielle sur l'activité de la décarboxylase de l'acide glutamique, il nous a semblé nécessaire, au préalable, d'étudier l'influence de ces régimes alimentaires sur la vitesse de formation des acides aminés libres à partir du glucose dans le cortex cérébral de Rat. Pour effectuer ces recherches, il est nécessaire d'avoir recours à des techniques faisant intervenir les radioisotopes, en particulier le ¹⁴C; il s'agit en effet, de pratiquer à ces Rats une injection sous-cutanée de glucose (U-¹⁴C) et d'étudier la vitesse d'incorporation du carbone marqué dans les acides aminés libres du cortex cérébral.

I) INTRODUCTION

On admet que, dans les conditions physiologiques normales, le glucose représente le principal substrat dans le métabolisme oxydatif du cerveau de Mammifères. WAELSCH (1949, cité par TOWER, 1960) avait constaté que des coupes de cerveau, épuisées expérimentalement en glutamine et en acide glutamique, pouvaient resynthétiser ces substances à partir du glucose comme unique substrat; ceci montre que l'acide glutamique cérébral est formé à partir du glucose. De nombreux travaux effectués depuis ont confirmé les résultats obtenus par WAELSCH (1949).

1) Etudes *in vitro*

BELOFF-CHAIN & Coll. (1955), sur des coupes de cerveau de Rat, mises en incubation en présence de glucose (U-¹⁴C), ont montré que la majorité du glucose métabolisé apparaît sous forme d'acide lactique (62%) et de CO₂ (20%), et que le reste, soit 18%, est essentiellement converti en acides aminés : acide glutamique (9%), alanine (1,5%), acide γ-aminobutyrique (3%) et acide aspartique (2,4%).

BUSCH & Coll. (1956), en plaçant les coupes de cerveau de Rat dans un milieu renfermant du pyruvate (2 - ¹⁴C) constatent que la radioactivité est répartie entre les différents métabolites de la façon suivante : CO₂ (12%), acide lactique (20%), acide glutamique (42%), acide aspartique (17%), alanine (9%) soit 68% pour l'ensemble des acides aminés; la répartition de la radioactivité entre les différents acides aminés est donc assez semblable à celle indiquée par BELOFF-CHAIN & Coll. (1955). Une addition simultanée de glucose et d'acide glutamique au milieu baignant les coupes de cerveau se traduit par une augmentation du marquage à la fois de l'acide lactique et de l'alanine; par ailleurs, le pourcentage de radioactivité sur l'ensemble des acides aminés passe de 68 à 57%.

* LEHR & GAYET (1967).

Les ions K^+ qui stimulent la respiration, ont un effet sur la formation des acides aminés dans les coupes de cortex cérébral de Rat (KINI & QUASTEL, 1959); ces auteurs ont placé les coupes dans un milieu d'incubation en présence de glucose ($U-^{14}C$), les concentrations en ions K^+ étant respectivement égales à 5 mM et 105 mM. L'augmentation de la concentration des ions K^+ dans le milieu d'incubation se traduit par des variations dans le marquage des différents acides aminés; ainsi on observe une nette augmentation pour la glutamine (100%) et l'acide γ -aminobutyrique, une augmentation légère pour l'acide glutamique et l'alanine et une baisse légère dans le marquage de l'acide aspartique. Ces différentes variations peuvent s'expliquer par le fait que les ions K^+ provoquent une accélération du cycle de l'acide tricarboxylique en accélérant la conversion de l'acide pyruvique en acétylcoenzyme A, d'où une augmentation du taux de turnover de l'acide α -cétoglutarique; l'accumulation d'acide α -cétoglutarique entraîne une augmentation de la concentration en acide glutamique dont l'excès par rapport à la normale apparait sous forme de glutamine et d'acide γ -aminobutyrique.

2) Etudes *in situ* - Perfusion

Un certain nombre de chercheurs ont étudié le métabolisme du glucose en perfusant le cerveau de Chat *in situ* selon la technique décrite par GEIGER (1958); dans ce cas, la circulation cérébrale est totalement isolée ce qui permet de pratiquer la perfusion avec un liquide différent du sang. ALLWEIS & MAGNES (1958) et GEIGER & Coll. (1960) ont effectué la perfusion à l'aide de « sang simplifié » (globules rouges de sang de Bœuf lavés puis mis en suspension dans une solution de Ringer contenant de l'albumine) auquel ils ont ajouté du glucose ($U-^{14}C$). Dans ces conditions, la concentration en ^{14}C du CO_2 respiratoire augmente durant les 30 premières minutes après adjonction du glucose marqué dans le liquide de perfusion, pour atteindre un pourcentage d'environ 30%, puis se maintient à peu près constante jusqu'à la fin de la perfusion. Ces résultats montrent que seule une partie du CO_2 provient directement du glucose, l'oxydation de substrats endogènes non glucidiques fournissant le reste du CO_2 . BARKULIS & Coll. (1960), en opérant dans les mêmes conditions que GEIGER & Coll. (1960), ont montré que le ^{14}C provenant du glucose est incorporé dans les acides aminés du cortex cérébral, en particulier dans les acides glutamique et aspartique.

3) Etudes *in vivo*

En injectant par voie intraveineuse du pyruvate ($2 - ^{14}C$) à des Rats adultes, BUSCH (1955) a constaté que, dans le cerveau, 1 minute après l'injection, 77,8% de la radioactivité totale se rencontre dans les acides aminés; c'est l'acide glutamique qui en renferme la plus grande partie. BUSCH & Coll. (1960) ont par ailleurs injecté par voie intraveineuse du glucose ($1 - ^{14}C$) à des Rats adultes anesthésiés; dans le cerveau, 1 minute après l'injection, l'acide lactique renferme 72% de la radioactivité totale. Dans les minutes qui suivent, on assiste à une augmentation progressive de la radioactivité dans les acides aminés, acide

glutamique, acide aspartique et alanine, alors que la radioactivité de l'acide lactique baisse; ainsi 15 minutes après l'injection, 75% de la radioactivité provenant du glucose se situe dans les trois acides aminés alors que l'acide lactique n'en renferme plus que 25%.

VRBA (1962), de son côté, a refait des expériences similaires en injectant à des Rats du glucose (U - ^{14}C); 2 minutes après l'injection intraveineuse, 41% de la radioactivité totale, contenue dans le cerveau est sous forme d'acides α -aminés et cette valeur croît jusqu'à 75% après 30 minutes. En étudiant la répartition de la radioactivité entre les différents acides aminés, VRBA (1962) a montré que les acides α -aminés dicarboxyliques (acides glutamique et aspartique) ont une radioactivité spécifique plus élevée que les acides α -aminés monocarboxyliques. Ces résultats montrent donc bien que les acides α -aminés radioactifs sont formés à partir du glucose dans le cerveau et ne sont pas transportés dans le cerveau par le sang; en effet, même 30 minutes après l'injection de glucose (U - ^{14}C), les acides α -aminés dans le sang renferment moins de 1% de la radioactivité totale de la fraction acidosoluble du sang.

De nombreux auteurs ont poursuivi ces travaux *in vivo* en injectant le glucose (U - ^{14}C) non plus par voie intraveineuse, mais par voie sous-cutanée; ainsi l'incorporation du ^{14}C provenant du glucose dans les différentes substances du cerveau s'effectue plus lentement, ce qui permet de suivre plus facilement la répartition du ^{14}C en fonction du temps. 30 minutes après une injection sous-cutanée de glucose (U - ^{14}C) à des Rats, GAITONDE & Coll. (1962) ont constaté que la fraction acidosoluble renferme 98,3% du ^{14}C retenu dans le cerveau : 94% du ^{14}C de cette fraction est lié aux acides aminés, 2% aux composés neutres dont le glucose, et 4% aux acides dicarboxyliques. Selon VRBA & Coll. (1962) la répartition du ^{14}C entre les différents groupes d'acides aminés est alors la suivante : acides aminés dicarboxyliques 80%, acides aminés neutres 19% et acides aminés basiques 1%. Ces travaux ont été poursuivis par GAITONDE & Coll. (1965), qui ont pu déterminer la répartition du ^{14}C entre les principaux acides aminés. Enfin, GAITONDE & Coll. (1963, 1964) ont abouti à des résultats semblables en injectant par voie sous-cutanée du glucose (U - ^{14}C) à des Chats.

4) Métabolisme du glucose *in vivo*

Du glucose qui pénètre dans le cerveau à partir du sang, seule une fraction est oxydée directement en CO_2 ; une partie importante du glucose intervient en effet dans la synthèse des acides aminés, des protéines et des lipides, composés qui à leur tour pourront être oxydés ultérieurement en CO_2 .

II) TECHNIQUES

1) Injection du glucose (U - ^{14}C)

Les expériences sont effectuées sur des Rats mâles adultes. On leur injecte, par voie sous-cutanée, 0,5 ml d'une solution aqueuse renfermant 10 μCi de glucose uniformément marqué au ^{14}C et 1 mg de glucose comme entraîneur. Il est important que ces rats ne soient pas anesthésiés au moment de l'injection ce qui entraînerait une modification

dans la concentration des acides aminés libres du cortex cérébral. Ainsi l'anesthésie du Rat par le thiopental s'accompagne dans le cerveau, d'une diminution de la teneur en acide glutamique et d'une augmentation de la teneur en acide aspartique (DAWSON, 1953). L'injection étant effectuée, les rats sont décapités après des périodes de 5 à 60 minutes.

2) Extraction des acides aminés

La technique d'extraction est identique à celle décrite dans le chapitre IV. Après décapitation, le cortex cérébral est prélevé en chambre froide à $+ 2^{\circ}\text{C}$, pesé, congelé au contact d'une plaque à neige carbonique, puis homogénéisé à l'aide d'un appareil de POTTER-ELVEJHEM dans 5 ml d'éthanol à 75%. A ces 5 ml d'homogénat, versés dans un tube à centrifuger, on ajoute 10 ml d'éthanol à 75%. Après une centrifugation à 12.000g pendant 20 minutes (Ultracentrifugeuse SPINCO, modèle L, rotor n° 30), on prélève le liquide surnageant limpide et incolore. On pratique alors un lavage du sédiment à l'aide de 5 ml d'éthanol à 75%. Après une nouvelle centrifugation, on recueille le liquide surnageant qui est ajouté à celui obtenu précédemment.

On fait passer cette solution alcoolique, renfermant les acides aminés libres du cortex, sur une colonne de résine Amberlite IR 120 analytique Prolabo (2 grammes sous forme hydrogène). On lave la colonne successivement à l'aide de 5ml d'éthanol à 75% et de 30 ml d'eau bidistillée. La résine est ensuite éluée par 45 ml d'ammoniaque 3N. Après réduction à sec de l'éluat dans un évaporateur rotatif, on reprend le résidu par 1,5 ml d'isopropanol à 10%.

3) Séparation des acides aminés

Pour séparer les différents acides aminés contenus dans l'extrait, nous pratiquons une électrophorèse à l'aide d'un tampon à pH 3,9 ayant la composition suivante : pyridine - acide acétique - eau (30 : 100 : 4870). L'électrophorèse s'effectue dans un appareil « en toit » (type Durrum), de grande dimension, sur papier Whatman N° 1 (57 x 46 cm). La migration se fait dans le sens de la plus grande dimension, du pôle + au pôle —, sous une tension de 380 volts, pendant 15 heures.

Pour chaque expérience, nous effectuons trois électrophorèses. L'extrait est déposé en trois points de la feuille sur une droite parallèle au bord anodique et située à 20 cm de celui-ci; ces points sont distants respectivement de 10, 23 et 36 cm de l'autre bord. A chacun des emplacements, on dépose 50 μl de l'extrait, le diamètre du dépôt devant être inférieur à 6 mm. Nous obtenons ainsi trois bandes, une bande centrale et deux bandes latérales. Après séchage de la feuille à la température ambiante, les deux bandes latérales sont immergées dans le réactif à la ninhydrine, réactif dont nous avons donné la composition dans les techniques de dosage au chapitre IV, puis placées à l'étuve à 37°C pendant une nuit. Ces deux bandes latérales nous permettent de situer exactement sur la bande centrale les emplacements respectifs de l'acide aspartique, de l'acide glutamique, de l'acide γ -aminobutyrique, des acides aminés à comportement neutre, des acides aminés à comportement basique.

4) Détermination de la radioactivité

Les zones correspondant aux emplacements antérieurement définis sont découpées dans la bande centrale. Nous pouvons alors déterminer directement la radioactivité sur ces feuilles de papier Whatman N° 1 à l'aide du détecteur à scintillations pour rayonnement β de basse énergie, décrit par ROUCAYROL & Coll. (1957) : détecteur type DMSL 2, marque SAIP, Malakoff. Les morceaux de papier, imbibés au préalable d'un scintillateur liquide, sont placés directement sur la photocathode du photomultiplicateur. La composition du scintillateur liquide est la suivante :

2,5 - Diphényloxazole (PPO) Merck 3 g
2,2' - paraphénylène-bis-(5-phényloxazole) (POPOP) Merck 100 mg
Toluène (pour analyses) Merck q. s. p. 1 litre

On détermine les taux d'activité en coups par minute (c.p.m.) en effectuant des comptages sur 10 minutes.

III) RESULTATS et DISCUSSION

1) Rats témoins

Nous avons effectué 6 expériences sur des rats témoins (tableau 8); le poids moyen de ces rats était de 342 g, le poids moyen du cortex cérébral frais de 0,923 g.

Tableau 8 - Expériences effectuées sur les Rats témoins

N° du Rat	Poids du Rat (g)	Poids du cortex frais (g)	Temps entre l'injection et la décapitation (minutes)	Radioactivité spécifique du glucose (U- ¹⁴ C) injecté (m Cie/m M)
286	341	0,919	5	20,7
288	342	0,930	15	20,7
287	326	0,900	30	20,7
335	344	0,894	30	66
292	347	0,905	45	20,7
334	355	0,992	60	66

Dans le tableau 9 figurent les taux de radioactivité en coups par minute (c.p.m.) par gramme de tissu frais; nous constatons que la radioactivité totale dans les acides aminés libres du cortex cérébral de Rat croît rapidement pour atteindre une valeur maximale entre 30 et 60 minutes, ce qui est en accord avec les résultats obtenus par GAITONDE & Coll. (1965). En partant de ces valeurs, nous pouvons calculer le pourcentage de radioactivité dans les différentes catégories d'acides aminés, par rapport à la quantité de radioactivité totale dans les acides aminés libres (tableau 10). Dans les 30 premières minutes après l'injection, on assiste à des variations importantes : augmentation du pourcentage de radioactivité pour les acides aspartique et glutamique et

Tableau 9

Rats témoins

Distribution de la radioactivité dans les différents acides aminés libres du cortex cérébral de Rat
(en c. p. m. par gramme de tissu frais)

Acides aminés	Temps entre l'injection et la décapitation					
	5 minutes	15 minutes	30 minutes (N° 287)	30 minutes (N° 335)	45 minutes	60 minutes
Acide aspartique	0	168	3966	3523	2972	3306
Acide γ -aminobutyrique	135	287	3578	2953	2652	3034
Acide glutamique	328	1152	21110	16991	14600	18810
Groupe des neutres	326	915	8622	8478	6066	9485
Groupe des basiques	0	0	122	250	414	161
Totaux	789	2522	37398	32195	26704	34796

Tableau 10

Rats témoins

Pourcentage de radioactivité par catégorie d'acides aminés

Acides aminés	Temps entre l'injection et la décapitation				
	5 minutes	15 minutes	30 minutes	45 minutes	60 minutes
Acide aspartique	0	6,66	10,77	11,13	9,50
Acide γ -aminobutyrique	17,11	11,38	9,37	9,93	8,72
Acide glutamique	41,57	45,68	54,62	54,67	54,06
Groupe des neutres	41,32	36,28	24,69	22,72	27,26
Groupe des basiques	0	0	0,55	1,55	0,46

Tableau 11

Rats témoins
Radioactivités spécifiques (en c. p. m.)

Acides aminés	Temps entre l'injection et la décapitation					
	5 minutes	15 minutes	30 minutes (N° 287)	30 minutes (N° 335)	45 minutes	60 minutes
Radioactivité spécifique par μ mole						
Acide aspartique	0	84	1960	1750	1470	1640
Acide γ -aminobutyrique	78	172	2147	1772	1590	1824
Acide glutamique	40	140	2574	2072	1780	2295
Radioactivité spécifique par atome de Carbone						
Acide aspartique	0	21	490	437	368	410
Acide γ -aminobutyrique	19	43	537	443	398	455
Acide glutamique	8	28	515	414	356	459

le groupe des acides aminés basiques, et diminution pour l'acide γ -aminobutyrique et le groupe des acides aminés neutres. Par contre, entre 30 et 60 minutes, les valeurs se stabilisent : la répartition de la radioactivité (en%) entre les différents acides aminés est alors la suivante :

acide glutamique	54,45
acide γ -aminobutyrique	9,34
acide aspartique	10,47
acides aminés neutres	24,89
acides aminés basiques	0,85

A signaler que le groupe des acides aminés neutres renferme deux acides aminés importants, l'alanine et la glutamine.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par GAITONDE & Coll. (1965); ces auteurs, en injectant par voie sous-cutanée du glucose (U - ^{14}C) ($10 \mu\text{Cie}$) à des Rats mâles de 100 à 110 g, ont constaté que les acides aminés renfermaient, 30 minutes après l'injection, 69% de la radioactivité totale de l'extrait; cette radioactivité est répartie entre les principaux acides aminés de la façon suivante :

acide glutamique	55,6
acide γ -aminobutyrique	5,9
acide aspartique	14,0
glutamine	13,6
alanine	3,4

Ces pourcentages, rapportés à la radioactivité totale de la fraction acides aminés, ont été calculés à partir des valeurs indiquées par les auteurs; GAITONDE & Coll. (1965) ont en effet déterminé la répartition de la radioactivité entre les différents acides aminés à partir de la radioactivité totale de l'extrait.

A partir des valeurs figurant au tableau 9, nous avons calculé les radioactivités spécifiques par μmole dans le cas des acides aspartique, glutamique et γ -aminobutyrique (tableau 11), en sachant que les concentrations de ces acides aminés dans le cortex cérébral de Rat normal sont respectivement égales à 2,02, 8,20 et 1,67 μmoles par gramme de tissu frais (voir chapitre IV). En supposant que la radioactivité est répartie uniformément sur les différents atomes de carbone de chaque acide aminé, nous pouvons calculer la radioactivité spécifique moyenne par atome de carbone dans le cas des trois acides aminés (tableau 11). Il suffit de diviser les radioactivités spécifiques par μmole , obtenues précédemment, par 5 dans le cas de l'acide glutamique et par 4 dans le cas des acides aspartique et γ -aminobutyrique.

Si nous examinons les radioactivités spécifiques rapportées à la μmole entre 30 et 60 minutes, nous constatons que l'acide glutamique présente la radioactivité spécifique la plus élevée; viennent ensuite dans l'ordre, l'acide γ -aminobutyrique et l'acide aspartique. Par contre, si nous examinons la radioactivité spécifique rapportée à l'atome de carbone, la valeur pour l'atome de carbone de l'acide γ -aminobutyrique est toujours supérieure à celle pour l'atome de carbone de l'acide glu-

tamique, ce qui confirme l'observation de GAITONDE (1964); par ailleurs, comme l'ont observé GAITONDE & Coll. (1965), les valeurs pour les acides aspartique et glutamique sont toujours très voisines, quel que soit le temps écoulé entre l'injection et la décapitation.

GAITONDE & Coll. (1965) ont remarqué que la radioactivité spécifique de l'acide glutamique dans le cerveau est directement proportionnelle à la radioactivité totale des acides aminés libres du cerveau après injection sous-cutanée de glucose ($U - ^{14}C$). Nous pouvons donc écrire $y = a x$, y étant la radioactivité totale des acides aminés en c.p.m. par gramme de tissu frais, et x la radioactivité spécifique de l'acide glutamique en c.p.m. par μ mole. Si nous calculons la pente a dans le cas de nos expériences à 30 minutes et de nos expériences à 45 et 60 minutes, nous obtenons respectivement des valeurs égales à 14,5 15,5 15,0 et 15,1 soit en moyenne $a = 15$; nos résultats confirment donc bien l'observation de GAITONDE & Coll. (1965).

2) Rats au jeûne protéique

Pour les rats au jeûne protéique, 6 expériences ont été effectuées après 30 jours et 6 expériences après 60 jours de traitement (tableau 12).

Tableau 12 - Expériences effectuées sur les Rats au jeûne protéique

N° du Rat	Poids du Rat à la mise en carence (g)	Poids du Rat à la décapitation (g)	Poids du cortex frais (g)	Temps entre l'injection et la décapitation (minutes)	Radioactivité spécifique du glucose ($U^{14}C$) injecté (m Cie/m M)
Jeûne protéique de 30 jours					
313	325	245	0,873	15	66
314	329	246	0,943	30	66
329	332	257	0,970	30	69
318	338	237	0,919	45	66
332	329	255	0,969	60	69
338	338	278	0,872	60	69
Jeûne protéique de 60 jours					
291	312	163	0,893	15	66
301	347	199	0,918	22	66
304	357	193	0,882	30	66
310	333	174	0,860	30	66
327	345	225	0,960	60	69
330	343	196	0,857	60	69

Après 30 et 60 jours de carence protéique, le poids moyen des rats était respectivement de 253 g et de 191 g, le poids moyen du cortex cérébral de 0,924 g et de 0,895 g. En partant des taux de radioactivité

en c.p.m. par gramme de tissu frais (tableaux 13 et 14), valeurs assez semblables à celles obtenues chez les rats témoins (tableau 9), nous avons calculé le pourcentage de radioactivité dans les différents acides aminés, par rapport à la quantité de radioactivité totale dans l'ensemble des acides aminés libres (tableau 15). Dans le cas des rats soumis au jeûne protéique pendant 30 jours, la répartition de la radioactivité (en %) entre les différents acides aminés se stabilise entre 30 et 60 minutes autour des valeurs moyennes suivantes :

acide glutamique	51,80
acide γ -aminobutyrique	8,42
acide aspartique	10,45
acides aminés neutres	28,67
acides aminés basiques	0,66

A noter une légère augmentation du pourcentage de radioactivité dans les acides aminés neutres au détriment de l'acide glutamique. Si nous envisageons maintenant les rats carencés en protéines pendant 60 jours, la répartition moyenne (en %) de la radioactivité entre les différents acides aminés, entre 30 et 60 minutes, est la suivante :

acide glutamique	49,85
acide γ -aminobutyrique	8,81
acide aspartique	9,42
acides aminés neutres	31,16
acides aminés basiques	0,76

Les variations des pourcentages de radioactivité de l'acide glutamique et des acides aminés neutres, déjà observées chez les rats soumis à une carence en protéines pendant 30 jours, sont ici encore plus accentuées.

Sachant que les concentrations des acides glutamique, γ -aminobutyrique et aspartique dans le cortex cérébral sont respectivement égales à 9,14, 1,83, 1,67 μ moles par gramme de tissu frais pour les rats soumis à 30 jours de carence, et à 8,16, 1,69 et 1,48 μ moles par gramme de tissu frais pour ceux à 60 jours de carence en protéines, nous avons calculé à partir des valeurs figurant dans les tableaux 13 et 14, les radioactivités spécifiques par μ mole de ces 3 acides aminés (tableaux 16 et 17).

Contrairement aux observations faites sur les rats témoins (tableau 11) entre 30 et 60 minutes après l'injection, chez les rats au jeûne protéique, c'est l'acide aspartique qui présente la radioactivité spécifique, rapportée à la μ mole, la plus élevée, suivi dans l'ordre par l'acide glutamique et par l'acide γ -aminobutyrique. Si nous examinons à leur tour, les radioactivités spécifiques rapportées à l'atome de carbone (tableaux 16 et 17), nous constatons que la valeur pour l'atome de carbone de l'acide γ -aminobutyrique est, sauf pour les expériences à 60 minutes, toujours supérieure à la valeur pour l'atome de carbone de l'acide glutamique; par contre, la valeur pour l'atome de carbone de l'acide aspartique, contrairement aux observations faites chez les rats témoins, est toujours supérieure à celles pour les atomes de carbone des deux autres acides aminés. Dans les expériences effectuées à 22, 30, 45, et 60 minutes, l'équation $y = a \times x$ est encore vérifiée.

Tableau 13

Rats soumis au jeûne protéique pendant 30 jours

Distribution de la radioactivité dans les différents acides aminés libres du cortex cérébral de Rat
(en c. p. m. par gramme de tissu frais)

Acides aminés	Temps entre l'injection et la décapitation					
	15 minutes	30 minutes (N° 314)	30 minutes (N° 329)	45 minutes	60 minutes (N° 332)	60 minutes (N° 338)
Acide aspartique	171	2619	5227	5092	8854	4426
Acide γ -aminobutyrique	343	2100	4113	4222	7151	3463
Acide glutamique	1271	12510	25175	24918	45190	23463
Groupe des neutres	779	5997	14443	13438	28400	13257
Groupe des basiques	252	424	288	185	320	218
Totaux	2816	23650	49246	47855	89915	44827

Tableau 14

Rats soumis au jeûne protéique pendant 60 jours

Distribution de la radioactivité dans les différents acides aminés libres du cortex cérébral de Rat
(en c. p. m. par gramme de tissu frais)

Acides aminés	Temps entre l'injection et la décapitation				
	15 minutes	22 minutes	30 minutes (N° 304)	30 minutes (N° 310)	60 minutes (N° 327)
Acide aspartique	403	2102	3764	2325	2697
Acide γ -aminobutyrique	470	2527	3594	2279	2645
Acide glutamique	2138	12516	20487	11744	15145
Groupe des neutres	1400	6394	11270	6581	11677
Groupe des basiques	268	376	272	360	146
Totaux	4679	23915	39387	23289	32310
					76947

Tableau 15

Rats au jeûne protéique

Pourcentage de radioactivité par catégorie d'acides aminés

Acides aminés	Temps entre l'injection et la décapitation									
	30 jours de jeûne protéique					60 jours de jeûne protéique				
	15 minutes	30 minutes	45 minutes	60 minutes		15 minutes	22 minutes	30 minutes	60 minutes	
Acide aspartique	6,07	10,84	10,64	9,86		8,61	8,78	9,77	9,07	
Acide γ -aminobuty.	12,18	8,62	8,82	7,84		10,05	10,56	9,46	8,15	
Acide glutamique	45,14	52,01	52,07	51,30		45,69	52,33	51,22	48,48	
Groupe des neutres	27,66	27,35	28,08	30,58		29,92	26,72	28,44	33,88	
Groupe des basiques	8,95	1,18	0,39	0,42		5,73	1,61	1,11	0,42	

Tableau 16

Rats au jeûne protéique pendant 30 jours

Radioactivités spécifiques (en c. p. m.)

Acides aminés	Temps entre l'injection et la décapitation				
	15 minutes	30 minutes (N° 314)	30 minutes (N° 329)	45 minutes	60 minutes (N° 332)
					60 minutes (N° 338)
Radioactivité spécifique par μmole					
Acide aspartique	103	1573	3091	3059	5302
Acide γ -aminobutyrique	187	1151	2254	2309	3915
Acide glutamique	139	1368	2756	2726	4948
					2567
Radioactivité spécifique par atome de carbone					
Acide aspartique	26	393	773	765	1325
Acide γ -aminobutyrique	47	288	563	577	979
Acide glutamique	28	273	551	545	990
					665
					475
					513

Tableau 17
Rats au jeûne protéique pendant 60 jours
Radioactivités spécifiques (en c. p. m.)

Acides aminés	Temps entre l'injection et la décapitation				
	15 minutes	22 minutes	30 minutes (N° 304)	30 minutes (N° 310)	60 minutes (N° 327)
					60 minutes (N° 330)
Radioactivité spécifique par μmole					
Acide aspartique	272	1411	2534	1574	1824
Acide γ -aminobutyrique	278	1496	2126	1351	1567
Acide glutamique	262	1534	2510	1439	1857
					5086 3689 4718
Radioactivité spécifique par atome de carbone					
Acide aspartique	68	352	633	393	456
Acide γ -aminobutyrique	69	374	531	338	391
Acide glutamique	52	307	502	288	371
					1271 922 943

Pour les expériences portant sur une carence en protéines de 30 jours, la valeur moyenne de a est de 17,6; elle est par conséquent supérieure à celle déterminée à partir des expériences réalisées sur les rats témoins. Dans le cas des rats au jeûne protéique pendant 60 jours, a est égal à 16,1.

3) Rats en inanition partielle

Nous avons effectué 5 expériences sur des rats soumis pendant 53 jours à une inanition partielle (tableau 18); à la décapitation, le poids moyen de ces rats était de 224 g, le poids moyen du cortex cérébral

Tableau 18 - Expériences effectuées sur les Rats en inanition partielle pendant 53 jours.

N° du Rat	Poids du Rat à la mise en restriction (g)	Poids du Rat à la décapitation (g)	Poids du cortex frais (g)	Temps entre l'injection et la décapitation (minutes)	Radioactivité spécifique du glucose ($U^{14}C$) injecté (m Cie/m M)
321	327	217	0,917	15	69
322	323	213	0,905	30	69
325	324	223	0,902	30	69
324	341	232	0,934	60	69
326	332	235	0,963	60	69

frais de 0,926 g. Comparées aux valeurs obtenues chez les rats témoins (tableau 9), celles figurant au tableau 19 sont nettement plus élevées; à partir de ces dernières, nous avons calculé la répartition de la radioactivité (en %) entre les différents acides aminés (tableau 20). Alors que les taux de pourcentage se stabilisent entre 30 et 60 minutes après injection chez les

Tableau 20 - Rats en inanition partielle pendant 53 jours

Pourcentage de radioactivité par catégorie d'acides aminés

Acides aminés	Temps entre l'injection et la décapitation		
	15 minutes	30 minutes	60 minutes
Acide aspartique	11,50	11,02	10,04
Acide γ -aminobutyrique	9,11	8,95	8,49
Acide glutamique	54,14	53,41	53,83
Groupe des neutres	24,45	26,37	27,38
Groupe des basiques	0,80	0,25	0,26

Tableau 19

Rats en inanition partielle pendant 53 jours

Distribution de la radioactivité dans les différents acides aminés libres du cortex cérébral de Rat
(en c. p. m. par gramme de tissu frais)

Acides aminés	Temps entre l'injection et la décapitation				
	15 minutes	30 minutes (N° 322)	30 minutes (N° 325)	60 minutes (N° 324)	60 minutes (N° 326)
Acide aspartique	3140	11680	7849	11991	6767
Acide γ -aminobutyrique	2486	8972	6751	9925	5856
Acide glutamique	14776	53480	40299	61905	37746
Groupe des neutres	6674	28066	18703	31070	19460
Groupe des basiques	218	110	288	235	228
Totaux	27294	102308	73890	115126	70057

Tableau 21
Rats en inanition partielle pendant 53 jours
 Radioactivités spécifiques (en c. p. m.)

Acides aminés	Temps entre l'injection et la décapitation			
	15 minutes	30 minutes (N ^o 322)	30 minutes (N ^o 325)	60 minutes (N ^o 324)
				60 minutes (N ^o 326)
Radioactivité spécifique par μmole				
Acide aspartique	1591	5872	3977	6054
Acide γ -aminobutyrique	1303	4693	3561	5207
Acide glutamique	1477	5348	4030	6190
				3430
				3065
				3774
Radioactivité spécifique par atome de carbone				
Acide aspartique	398	1468	994	1513
Acide γ -aminobutyrique	326	1173	890	1301
Acide glutamique	295	1069	806	1238
				857
				766
				755

rats témoins, dans le cas présent, la stabilité est déjà atteinte 15 minutes après l'injection; la répartition de la radioactivité est alors assez semblable à celle observée chez les rats témoins :

acide glutamique	53,80
acide γ -aminobutyrique	8,85
acide aspartique	10,85
acides aminés neutres	26,07
acides aminés basiques	0,43

Il apparait que l'inanition partielle provoque une accélération de l'incorporation du ^{14}C du glucose dans les acides aminés libres du cortex cérébral.

Les radioactivités spécifiques en μ moles des acides aspartique, glutamique et γ -aminobutyrique chez les rats soumis à une inanition partielle (tableau 21), calculées à partir des valeurs figurant au tableau 19, les concentrations de ces acides aminés dans le cortex cérébral étant égales respectivement à 1,98, 10,0 et 1,91 μ moles par gramme de tissu frais, présentent des valeurs totalement différentes par rapport aux rats témoins (tableau 11). Dans le cas présent, l'acide aspartique présente la radioactivité spécifique la plus élevée à 15 et 30 minutes, puis celle-ci décroît légèrement à 60 minutes en faveur de l'acide glutamique. L'acide γ -aminobutyrique, de son côté, présente toujours la radioactivité spécifique la plus faible, quel que soit le temps écoulé entre l'injection et la décapitation. Si nous envisageons maintenant les radioactivités spécifiques rapportées à l'atome de carbone (tableau 21), comme chez les témoins, la valeur pour l'atome de carbone de l'acide γ -aminobutyrique est toujours supérieure à celle correspondant à l'atome de carbone de l'acide glutamique; par contre, la valeur pour l'acide aspartique est toujours supérieure aux deux précédentes. Pour l'ensemble des expériences portant sur les rats en inanition partielle, l'équation $y = a x$ est vérifiée. La valeur moyenne pour a est supérieure à celle déterminée chez les rats témoins; elle est en effet égale à 18,5.



VII) DISCUSSION GÉNÉRALE

Du point de vue nutritionnel, deux cas particuliers ont été envisagés au cours de ce travail :

Le jeûne protéique total. Dans ce cas, le régime alimentaire, en déséquilibre par suite du manque de protéines, renferme néanmoins une quantité suffisante de calories. Le Rat recevant ce régime est cependant soumis à une certaine restriction en calories du fait de la réduction de la prise d'aliment; en d'autres termes, à une carence en protéines vient s'ajouter une inanition partielle.

L'inanition partielle. Le régime alimentaire dans ce cas est équilibré, mais l'apport en calories est nettement insuffisant.

1) L'acide désoxyribonucléique et les protéines du cerveau.

Le poids du cortex cérébral ne varie pas que le Rat soit soumis au jeûne protéique total ou à l'inanition partielle (LEHR & GAYET, 1963); il en est d'ailleurs de même du poids du cerveau total quel que soit le degré de sévérité du jeûne auquel on soumet les Rats (PETERS & BOYD, 1966).

Les teneurs en ADN, en azote total et en protéines du cortex cérébral demeurent constantes au cours des traitements auxquels nous avons soumis les Rats. Nous confirmons ainsi les résultats obtenus par MANDEL & Coll. (1950) sur le cerveau total de Rat soumis à un jeûne protéique prolongé; ces auteurs avaient en effet constaté que les concentrations en ADN, ARN et protéines du cerveau total demeuraient stables. De leur côté, ALLISON & Coll. (1962), en donnant à des Rats sevrés des régimes renfermant comme protéine de la caséine, de l'albumine d'œuf, de la farine de graine de coton ou du gluten de blé, ont montré que la valeur nutritive de la protéine alimentaire n'a pas d'influence sur la concentration en protéines totales du cerveau, rapportée à l'ADN, et que le rapport protéines/P-ADN est indépendant de la quantité d'azote ingérée. De même, si des Rats adultes reçoivent un régime déficient en un acide aminé, la phénylalanine par exemple, la concentration en azote total du cortex cérébral ne subit pas de variations (ROBERTS, 1963).

Il semble donc que chez le Rat, la composition du régime alimentaire n'a aucune influence sur le nombre des cellules, la masse protoplasmique et la teneur en protéines totales du cerveau. Ceci est exact pour le Rat adulte mais ne l'est plus si nous nous adressons à un Rat en croissance; dans ce dernier cas, l'âge du Rat joue un rôle important. WINICK & NOBLE (1966) ont soumis des rats à une inanition partielle de 21 jours à différents stades de leur croissance : au moment de la naissance, au sevrage et à l'âge de 65 jours; ces rats sont ensuite nourris normalement jusqu'à l'âge adulte. La restriction alimentaire a peu d'influence sur les rats âgés respectivement de 21 (sevrage) et de 65 jours; si, après 21 jours d'inanition partielle, le poids ainsi que les

teneurs en ARN et en protéines du cerveau sont inférieures aux valeurs observées chez les rats témoins, ces valeurs redeviennent normales quand les rats ont atteint l'âge adulte; la teneur en ADN du cerveau chez les rats au jeûne partiel est égale à celle déterminée chez les rats témoins. Dans le cas des rats soumis à une restriction en calories à la naissance, il n'en est pas de même; à l'âge de 21 jours, au terme de la restriction, le poids du cerveau ainsi que les concentrations en ARN, en protéines et en ADN sont inférieures aux valeurs correspondantes obtenues chez les rats normalement nourris. Quand ces rats parviennent ensuite à l'âge adulte, ces valeurs demeurent encore anormalement faibles par rapport aux valeurs déterminées chez les rats témoins, en particulier la teneur en ADN est nettement inférieure à la normale : les divisions cellulaires ont été interrompues dans ce cas par la restriction en calories. Ceci peut s'expliquer par le fait que la quantité d'ADN dans le cerveau augmente jusqu'au 16^e jour environ avant d'atteindre sa valeur quasi définitive (MANDEL & BIETH, 1951); à ce stade, la multiplication des noyaux et des cellules est sensiblement arrêtée. Néanmoins, si la croissance du cerveau du Rat au niveau cellulaire est alors pratiquement terminée, le poids du cerveau continue à augmenter, les taux des protéines et des lipides n'ayant pas encore atteint leurs valeurs définitives (CLOUET & GAITONDE, 1956).

La relative stabilité des protéines du cerveau par rapport aux protéines des autres organes avait déjà été observée par ADDIS & Coll. (1936) chez le Rat soumis à un jeûne total pendant 7 jours : en effet, si le cerveau ne perd alors que 5% de ses protéines, la carcasse (muscles, peau et squelette) en perd 8%, les reins 20%, le sang 20%, le tube digestif 28%, enfin le foie 40%. Dans le cas d'une carence en protéines chez le Rat, on aboutit à des constatations semblables. Le foie est l'organe qui subit les pertes en protéines les plus importantes; viennent ensuite dans l'ordre les muscles squelettiques, les reins et le cœur (ALLISON & FITZPATRICK, 1960). Après le cerveau, le cœur est en effet l'organe dont les protéines et les enzymes sont les plus résistants (WAINIO & Coll., 1959). La carence protéique est également caractérisée par une teneur extrêmement faible en protéines sériques, due essentiellement à une baisse importante de l'albumine, le pool de l'albumine extravasculaire étant plus fortement réduit que le pool de l'albumine intravasculaire.

Il existe dans l'organisme des protéines de réserve (MUNRO, 1964) extrêmement labiles, qui sont les premières atteintes dans le cas d'une carence protéique; ces protéines de réserve, qui représentent environ 5% des protéines totales de l'organisme, sont essentiellement localisées dans le foie, le pancréas et la muqueuse intestinale. Dans ces organes, les concentrations en protéines baissent en effet dès les premiers jours qui suivent l'instauration du jeûne protéique, temps au cours duquel on observe également une baisse rapide de la quantité d'azote éliminée dans l'urine. Cette quantité d'azote se stabilise par la suite à une valeur minimale représentant l'azote endogène. Le Rat élimine donc pendant les premiers jours de la carence protéique en plus de la quantité d'azote correspondant à l'azote endogène, une quantité supplémentaire d'azote qui représente les pertes en protéines de réserve.

Ces protéines très labiles ne constituent pas les seules protéines de réserve; selon ALLISON (1964) peuvent être considérées comme protéines de réserve toutes celles dont les concentrations subissent des modifications en fonction de la teneur en protéines de la ration alimentaire; elles représentent environ 20% de l'azote total de l'organisme. Parmi celles-ci figurent, en dehors des protéines des organes déjà cités, l'albumine sérique, les protéines de la peau et des reins et surtout les protéines cellulaires des muscles squelettiques. Quand le jeûne protéique se prolonge, les protéines de réserve ainsi définies par ALLISON (1964), après dégradation, sont, soit éliminées par l'organisme (azote endogène), soit réutilisées sous forme d'acides aminés dans la synthèse d'autres protéines. La majeure partie des protéines que l'organisme prélève ainsi sur les organes secondaires (muscles squelettiques notamment) servent à alimenter en acides aminés les organes essentiels afin que ceux-ci puissent remplir leurs fonctions et synthétiser normalement les substances indispensables à l'organisme. Au cours d'une carence en protéines, la synthèse protéique est en effet maintenue ou même accentuée dans certains organes alors qu'elle est fortement abaissée dans d'autres. Ceci a été démontré par un certain nombre d'auteurs à l'aide des techniques aux radioisotopes.

SCHREIER & KAZASSIS (1960), après avoir injecté de la (^{14}C) lysine par voie intrapéritonéale à des Rats sevrés soumis à une carence totale en protéines, ont montré que la vitesse d'incorporation de la lysine marquée est beaucoup plus élevée dans les protéines des organes essentiels - cerveau, foie, cœur, reins, intestin - et dans les protéines du plasma que dans les protéines des muscles et de la peau. Au 9^e jour de jeûne protéique, l'activité spécifique des protéines du cerveau est nettement supérieure à celle des protéines des autres organes : elle est en effet près du double de celle des protéines hépatiques et sensiblement le triple de celle des protéines sériques. Selon ces auteurs, au niveau des organes essentiels et surtout du système nerveux central, la néosynthèse protéique est très active. SCHREIER & KAZASSIS (1960) ont par contre constaté qu'une inanition partielle n'influence pas la vitesse d'incorporation de la lysine marquée dans les protéines des organes examinés.

D'autres auteurs, en injectant de la (^{35}S) méthionine par voie intrapéritonéale à des Rats ou à des Chiens au jeûne protéique, sont parvenus à des résultats semblables. Ainsi WATERLOW (1959 b) a montré qu'à tout moment la proportion de radioactivité dans les viscères (c'est-à-dire entrailles, pancréas, rate, reins, poumons et myocarde) par rapport à la radioactivité du corps entier est plus grande chez les rats soumis à un régime renfermant 6% de protéines que chez les rats témoins; inversement, la radioactivité de la carcasse (muscles et os) et de la peau est plus faible chez les rats carencés que chez les rats témoins. L'incorporation de l'acide aminé marqué est donc nettement moindre dans les muscles et la peau. GARROW (1959) et WANNEMACHER (1961) ont constaté respectivement chez le Chien et le Rat carencés en protéines une augmentation de l'activité spécifique des protéines sériques par rapport aux animaux témoins; cette augmentation

de l'activité spécifique s'observe également dans les protéines hépatiques des Rats (WANNEMACHER, 1961) et des Chiens carencés en protéines (WANNEMACHER & Coll., 1963). Comme la concentration en méthionine libre est abaissée dans le sérum (ENDERSON & Coll., 1949) et le foie (THOMPSON & Coll., 1950) de Rats carencés en protéines, selon WANNEMACHER (1961), les augmentations de la radioactivité spécifique dans les protéines sériques et hépatiques seraient dues à une augmentation de la concentration de la (^{35}S) méthionine dans le pool des acides aminés. MURAMATSU & Coll. (1963), en injectant de la (^{35}S) DL-méthionine, ont également constaté que les radioactivités spécifiques des protéines du foie, des reins et de la muqueuse intestinale sont plus élevées chez les rats soumis à une carence en protéines que chez les rats recevant un régime renfermant 25% de protéines; selon ces auteurs, ces augmentations d'activité spécifique seraient dues au fait que la vitesse à laquelle les protéines perdent leur radioactivité baisse avec la réduction de la teneur en protéines de la ration; en d'autres termes, les taux de turnover des protéines tissulaires chez les rats témoins sont plus élevés que chez les rats carencés en protéines.

2) Les acides aminés du cerveau.

Dans les cas de jeûne protéique et d'inanition partielle chez le Rat, nous avons observé certaines modifications dans les concentrations des acides aminés libres du cortex cérébral (cf. chapitre IV); de même après injection sous-cutanée de glucose ($\text{U-}^{14}\text{C}$), il apparaît des modifications d'une part dans la répartition de la radioactivité entre les différentes catégories d'acides aminés libres, d'autre part dans les radioactivités spécifiques des acides glutamique, aspartique et γ -aminobutyrique (cf. chapitre VI). Dans l'état présent des recherches, il est difficile d'expliquer ces variations; nous nous efforcerons néanmoins de rechercher les facteurs qui sont susceptibles d'engendrer de telles variations.

Comme l'acide glutamique, ainsi que les acides aminés qui sont synthétisés à partir de celui-ci dans le système nerveux central - acides aspartique et γ -aminobutyrique, glutamine, alanine - ont pour origine principale le glucose sanguin, l'approvisionnement du cerveau en glucose constitue un facteur de première importance. Cet approvisionnement dépend d'une part du volume de sang qui irrigue le cerveau, d'autre part de la concentration en glucose de ce sang. Aucune étude n'a été faite à ce sujet chez le Rat soumis à une dénutrition protéique ou à une inanition partielle; nous savons néanmoins que dans les cas de kwashiorkor, il y a réduction du débit cardiaque accompagné de bradycardie, et généralement hypoglycémie. Si nous n'avons pas de données concernant la concentration du glucose sanguin, nous savons cependant que les facteurs intervenant dans la régulation de la glycémie subissent des perturbations au cours du jeûne protéique : sécrétion réduite d'insuline observée chez les Porcs carencés en protéines, hyperfonctionnement des surrénales et réduction des activités thyroïdiennes et hypophysaires chez les Porcs et les Rats soumis à un régime déficient en protéines.

La présence de concentrations élevées en acide pyruvique et surtout en acide lactique dans le sang de Rats ou de Porcs déficients en protéines-calories dénote également une anomalie dans le métabolisme des glucides. Selon WHITEHEAD & HARLAND (1966), qui ont fait des observations analogues chez les enfants souffrant de kwashiorkor, il y aurait un phénomène de « blocage » au niveau des réactions intervenant dans l'oxydation de l'acide pyruvique via le cycle tricarboxylique, de sorte que l'acide pyruvique en excès serait converti en acide lactique; parmi les causes possibles de ce blocage figure la déficience en thiamine. Cette forte concentration en acide lactique dans le sang peut intervenir dans la synthèse des acides aminés libres du système nerveux central. O'NEAL & KOEPPE (1966), en injectant de l'acide lactique ($2\text{-}^{14}\text{C}$) à des Rats par voie intraveineuse, ont en effet montré que l'acide lactique constitue un excellent précurseur des acides aminés libres du cerveau; il y aurait passage rapide de cet acide au niveau de la barrière sang-cerveau par réaction d'échange.

Le foie joue également un rôle important dans le métabolisme des acides aminés du système nerveux central. En effet FLOCK & BOLL-MAN (1962) et FLOCK & Coll. (1966) ont montré qu'une hépatectomie totale chez le Rat entraîne des modifications dans la concentration d'un certain nombre d'acides aminés libres du cerveau : forte augmentation de la teneur en glutamine, augmentation légère de la tyrosine, phénylalanine, histidine, thréonine, tryptophanne, lysine et alanine, légère baisse de la concentration en acide glutamique, enfin réduction de la concentration en acide aspartique de 50% environ 6 heures après l'hépatectomie; la concentration en ammoniacque est doublée. L'hépatectomie entraîne également des perturbations dans l'incorporation du carbone du glucose ($\text{U-}^{14}\text{C}$) dans les acides aminés du cerveau; 15 minutes après l'injection intraveineuse de glucose ($\text{U-}^{14}\text{C}$), les acides aminés ne renferment que 47% du ^{14}C contre 66% chez les rats normaux. On assiste à une accumulation d'acide lactique; en effet une partie importante de l'acide pyruvique est réduite en acide lactique. La vitesse à laquelle s'effectue la glycolyse est normale. En partant de ces observations, FLOCK & Coll. (1966) supposent que le foie libère un facteur qui agirait sur l'acide pyruvique afin que celui-ci emprunte la voie du cycle tricarboxylique. Ils émettent également l'hypothèse suivant laquelle la réduction de la conversion du glucose en acides aminés après hépatectomie serait due à une accumulation de certaines substances toxiques, l'ammoniacque en particulier. En effet, Mc KHANN & TOWER (1961) ont montré que l'addition de NH_4Cl à des coupes de cerveau se traduit par une baisse de la consommation d'oxygène, une augmentation de la production d'acide lactique et une inhibition dans l'utilisation de l'acide pyruvique; ces auteurs pensent que l'effet toxique initial de l'ammoniacque dans le cerveau peut être dû à une interférence directe dans la décarboxylation oxydative de l'acide pyruvique. L'abaissement de la concentration en acide aspartique ainsi que la réduction de l'incorporation du ^{14}C dans cet acide aminé après hépatectomie sont des preuves d'une diminution du taux de l'oxydation de l'acide glutamique; l'acide glutamique est en effet surtout converti en glutamine (FLOCK & Coll., 1966). En associant une hépatectomie à une pancréatectomie

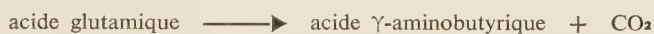
chez le Rat, FLOCK & Coll. (1966) ont constaté que la vitesse de la glycolyse dans le cerveau est fortement réduite; le cerveau renferme en effet une forte teneur en glucose et une faible teneur en acide lactique. FLOCK & Coll. supposent que cette baisse de la vitesse de la glycolyse est due à un apport insuffisant en insuline, conséquence de l'extirpation du pancréas.

L'acide aspartique peut être synthétisé dans le cerveau de trois façons différentes :

a) Il peut être formé directement à partir de l'acide glutamique par transamination :



b) Il peut provenir également de l'oxydation de l'acide γ -aminobutyrique; TSUKADA & Coll. (1960) ont en effet observé, en plaçant des coupes de cortex cérébral dans un milieu d'incubation renfermant de l'acide γ -aminobutyrique ($^{14}\text{COOH}$), une incorporation du ^{14}C dans les acides glutamique et aspartique. Selon HASLAM & KREBS (1963), la conversion de l'acide glutamique en acide aspartique pourrait s'effectuer par l'intermédiaire des réactions suivantes :



c) WAEELSCH (1962 b) a montré que le tissu cérébral est capable de fixer le CO_2 ; en administrant par voie intracarotidienne du (^{14}C) bicarbonate à des Chats, il apparaît une forte radioactivité dans les acides aspartique et glutamique. L'acide aspartique a la radioactivité spécifique la plus élevée ce qui montre que la fixation du CO_2 s'effectue au niveau de l'acide oxaloacétique suivant la réaction :



L'enzyme intervenant dans cette réaction est la décarboxylase de l'acide oxaloacétique.

OTSUKI & Coll. (1963), en perfusant le cerveau de Chat à l'aide de la technique décrite par GEIGER (1958), ont constaté que 10% de l'acide oxaloacétique est formé par fixation du CO_2 ; à cet effet, ils ont étudié l'incorporation du ^{14}C dans les acides aspartique, glutamique, γ -aminobutyrique et lactique après avoir ajouté dans le liquide de perfusion du (^{14}C)-bicarbonate, l'activité spécifique du CO_2 dans le liquide de perfusion étant maintenue constante.

Comment concilier, dans le cas du jeûne protéique, l'abaissement de la concentration en acide aspartique dans le cortex cérébral avec une augmentation de l'activité spécifique de cet acide aminé ? En sachant quelle est l'importance de la fixation du CO_2 dans les processus métaboliques au niveau du cortex cérébral dans le cas d'une carence protéique, nous pourrions peut-être trouver une réponse à cette question; en effet, une augmentation de la fixation du CO_2 radioactif sous forme d'acide oxaloacétique peut entraîner une augmentation de la

radioactivité spécifique de l'acide aspartique. Pour résoudre ce problème, nous ne savons pas si la carence protéique chez le Rat modifie la teneur en CO_2 du cerveau; dans les cas de kwashiorkor, il apparait probablement des modifications de cette teneur du fait de la réduction d'une part du débit cardiaque, d'autre part de l'activité de l'anhydrase carbonique.

Cet enzyme joue en effet un rôle important dans le sang, dans l'équilibre entre CO_2 et H_2CO_3 en catalysant la réaction :



L'acide carbonique est à son tour partiellement dissocié en ions carbonates acides HCO_3^- suivant la réaction :



Une variation d'activité de l'anhydrase carbonique peut par conséquent avoir une influence sur les teneurs en CO_2 et en H_2CO_3 du sang, ce qui peut entraîner indirectement une variation du rapport $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$, qui représente le système tampon le plus important de l'organisme, d'où une modification possible du pH sanguin.

CONCLUSION

En conclusion, dans l'état actuel de nos recherches, il nous est impossible d'expliquer les modifications observées dans le métabolisme des acides aminés libres dans le cortex cérébral des Rats soumis à une carence protéique ou à une inanition partielle. C'est en poursuivant les recherches entreprises que nous pourrons peut-être envisager une explication satisfaisante des phénomènes.



BIBLIOGRAPHIE

- ADAMS E. B. & SCRAGG J. N. (1962) - Serum vitamin B₁₂ concentrations in megaloblastic anemia associated with kwashiorkor and marasmus. *J. Pediat.*, **60**, 580-585.
- ADAMS E. B. & SCRAGG J. N. (1965) - Iron in the anaemia of kwashiorkor. *Brit. J. Haemat.*, **11**, 676 - 681.
- ADDIS T., POO L. J. & LEW W. (1936) - The quantities of protein lost by the various organs and tissues of the body during a fast. *J. Biol. Chem.*, **115**, 111 - 116.
- ALBERS R.W. & JAKOBY W. B. (1960) - Transaminations and the isotopic labeling of glutamate in brain. In « *Inhibition in the nervous system and gamma-aminobutyric acid* ». 1 vol., Pergamon Press, Oxford, 468 - 470.
- ALLEYNE G. A. O. (1966) - Cardiac function in severely malnourished Jamaican children. *Clin. Sci.*, **30**, 553 - 562.
- ALLEYNE G. A. O. & YOUNG V. H. (1966) - Adrenal function in malnutrition. *Lancet*, **1**, 911 - 912.
- ALLISON J. B. (1964) - The nutritive value of dietary proteins. In « *Mammalian protein metabolism* » (MUNRO H. N. & ALLISON J. B. ed.) Vol. **2**, 41 - 86, Academic Press, New-York.
- ALLISON J. B. & FITZPATRICK W. H. (1960) - *Dietary proteins in health and disease*. 1 vol., Thomas, Springfield.
- ALLISON J. B., WANNEMACHER R. W., BANKS W. L., WUNNER W. H. & GOMEZ-BRENES R. A. (1962) Dietary proteins correlated with ribonuclease, ribonucleic acid, and tissue proteins. *J. Nutrition*, **78**, 333 - 337.
- ALLWEIS C. & MAGNES J. (1958) - The uptake and oxidation of glucose by the perfused cat brain. *J. Neurochem.*, **2**, 326 - 336.
- ARROYAVE G., BEHAR M., WILSON D., MENDEZ J. & SCRIMSHAW N. S. (1959 a) - Changes in serum and liver lipids and vitamin A in kwashiorkor during initial recovery. *Fed. Proc.*, **18**, 516.
- ARROYAVE G., VITERI F., BEHAR M. & SCRIMSHAW N. S. (1959 b) - Impairment of intestinal absorption of vitamin A palmitate in severe protein malnutrition (kwashiorkor). *Amer. J. Clin. Nutr.*, **7**, 185 - 190.
- ARROYAVE G., WILSON D., MENDEZ J., BEHAR M. & SCRIMSHAW N. S. (1961 a) - Serum and liver vitamin A and lipids in children with severe protein malnutrition. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **9**, 180 - 185.
- ARROYAVE G., WILSON D., BEHAR M. & SCRIMSHAW N. S. (1961 b) - Serum and urinary creatinine in children with severe protein malnutrition. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **9**, 176 - 179.
- ARROYAVE G., WILSON D., DE FUNES C. & BEHAR M. (1962) - The free amino acids in blood plasma of children with kwashiorkor and marasmus. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **11**, 517 - 524.
- ASCHKENASY A. (1957) - On the pathogenesis of anemias and leukopenias induced by dietary protein deficiency. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **5**, 14 - 25.
- ASCHKENASY A. (1961 a) - Le retentissement de la carence alimentaire en protéines sur la thyroïde et les surrénals. La part revenant à un dysfonctionnement de ces deux glandes dans la genèse de diverses manifestations de la carence. *Ann. Nut. et Alim.*, **15**, B 165 - B 208.
- ASCHKENASY A. (1961 b) - Comparaison des effets métaboliques de l'hormone thyroïdienne et de la thyroxine en régimes équilibrés ou dépourvus de protéines. *C. R. Soc. Biol.*, **155**, 454 - 458.
- ASCHKENASY A., ADAM Y. & JOLY PH. (1966) - Quelques données sur l'état fonctionnel des cortico-surrénals chez le Rat carencé en protéines ou en certains acides aminés. *Annales d'endocrinologie*, **27**, 21 - 36.
- ASCHKENASY A. & BENHAMOU J. P. (1950) - Etude comparée de l'action anabolisante de la méthionine et de la cystine en régime pauvre en protéines. Répartition anatomique de l'augmentation de poids réalisée par les deux acides aminés soufrés. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **32**, 657 - 671.

- ASCHKENASY A., BENHAMOU J. P. & ROLLAND G. J. (1952) - Effets de la méthionine et de la cystine sur la thyroïde et sur l'activité thyroïdienne des hypophyses de Rats partiellement carencés en protéines. *C. R. Soc. Biol.*, **146**, 44 - 47.
- AWAPARA J., LANDUA A. J., FUERST R. & SEALE B. (1950) - Free γ -aminobutyric acid in brain. *J. Biol. Chem.*, **187**, 35 - 39.
- BACK E. H., MONTGOMERY R. D. & WARD E. E. (1962) - Neurological manifestations of magnesium deficiency in infantile gastroenteritis and malnutrition. *Arch. Disease Childhood*, **37**, 106 - 109.
- BAGCHI K. (1957) - The effects of low protein diet and of methionine sulfoximine on the sulphhydryl content of the lens of the eyes of the rat. *Proc. Nutr. Soc.*, **16**, XXIV.
- BAIG H. A. & EDOZIEN J. C. (1965) - Carbohydrate metabolism in kwashiorkor. *Lancet*, **2**, 662 - 665.
- BALAZS R. (1965 a) - Control of glutamate oxidation in brain and liver mitochondrial systems. *Biochem. J.*, **95**, 497 - 508.
- BALAZS R. (1965 b) - Control of glutamate metabolism. The effect of pyruvate. *J. Neurochem.*, **12**, 63 - 76.
- BALAZS R., DAHL D. & HARWOOD J. R. (1966) - Subcellular distribution of enzymes of glutamate metabolism in rat brain. *J. Neurochem.*, **13**, 897 - 905.
- BARGONI N. (1951) - Enzymatic activity and protein amounts in the liver. *Experientia*, **7**, 104 - 105.
- BARGONI N., CAFIERO M., DI BELLA S., DE MORI E. & GRILLO M. A. (1952) - Effect of a protein deficient diet upon some enzymatic activities of the brain, lung and kidney of rats. *Experientia*, **8**, 306 - 307.
- BARKULIS S. S., GEIGER A., KAWAKITA Y. & AGUILAR V. (1960) - A study on the incorporation of ^{14}C derived from glucose into the free amino acids of the brain cortex. *J. Neurochem.*, **5**, 339 - 348.
- BARROWS C. H. & CHOW B. F. (1959) - Dietary proteins and synthesis of tissue proteins. In « *Protein and amino acid nutrition* ». (ALBANESE A. A. ed.). 1 vol., Academic Press, New-York, 117 - 142.
- BAZEMORE A. W., ELLIOTT K. A. C. & FLOREY E. (1957) - Isolation of factor I. *J. Neurochem.*, **1**, 334 - 339.
- BELOFF-CHAIN A., CATANZARO R., CHAIN E. B., MASI I. & POCCHIARI F. (1955) - Fate of uniformly labelled ^{14}C glucose in brain slices. *Proc. Roy. Soc.*, **B 144**, 22 - 28.
- BENGGA J. M., JELLIFFE D. B. & PEREZ C. (1959) - Some indicators for a broad assessment of the magnitude of protein-calorie malnutrition in young children in population groups. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **7**, 714 - 720.
- BENNETT E. L., ROSENZWEIG M. R., KRECH D., OHLANDER A. & MORIMOTO H. (1961) - Cholinesterase activity and protein content of rat brain. *J. Neurochem.*, **6**, 210 - 218.
- BERENBLUM I. & CHAIN E. (1938 a) - Studies on the colorimetric determination of phosphate. *Biochem. J.*, **32**, 286 - 294.
- BERENBLUM I. & CHAIN E. (1938 b) - An improved method for the colorimetric determination of phosphate. *Biochem. J.*, **32**, 295 - 298.
- BERL S. & WAELSCH H. (1958) - Determination of glutamic acid, glutamine, glutathione and γ -aminobutyric acid and their distribution in brain tissue. *J. Neurochem.*, **3**, 161 - 169.
- BETHARD W. F. & WISSLER R. W. (1953) - The effect of protein depletion on erythropoiesis and tissue iron distribution in rats. *Clin. Res. Proc., Am. Fed. Clin. Res.*, **1**, 26.
- BISERTE G., BOULANGER P. & PAYSANT P. (1958) - Chromatographie sur papier des acides aminés et polypeptides des milieux biologiques. VI. Tissus normaux et pathologiques. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **40**, 2067 - 2089.
- BISERTE G., PLAQUET-SCHOONAERT T., BOULANGER P. & PAYSANT P. (1960) - Séparation des acides aminés des milieux biologiques complexes. V. Description d'un couplage des méthodes chromatographiques et électrophorétiques. *J. Chromatog.*, **3**, 25 - 47.

- BRAS G., WATERLOW J. C. & DE PASS E. (1957) - Further observations on the liver, pancreas and kidney in malnourished infants and children. *West Indian Med. J.*, **6**, 33 - 42.
- BRIERLEY G. P. & MEROLA A. J. (1962) - Studies of the electron-transfer system. XLVIII. Phospholipid requirements in cytochrome oxidase. *Biochim. biophys. Acta*, **64**, 205 - 217.
- BUNIANIAN H. Ch., HOVHANISSIAN V. S. & APRIKIAN G. V. (1965) - The participation of N-acetyl-L-aspartic acid in brain metabolism. *J. Neurochem.*, **12**, 695 - 703.
- BURCH H. B., ARROYAVE G., SCHWARTZ R., PADILLA A. M., BEHAR M., VITERI F. & SCRIMSHAW N. S. (1957) - Biochemical changes in liver associated with kwashiorkor. *J. Clin. Invest.*, **36**, 1579 - 1587.
- BUSCH H. (1955) - Studies on the metabolism of pyruvate - 2- ^{14}C in tumor-bearing rats. *Cancer Res.*, **15**, 365 - 374.
- BUSCH H., FUJIWARA E. & KEER L.M. (1960) - Metabolic patterns for glucose-1- ^{14}C in tissues of tumor-bearing rats. *Cancer Res.*, **20**, 50 - 57.
- BUSCH H., GOLDBERG M. H. & ANDERSON D. C. (1956) - Substrate effects on metabolic patterns of pyruvate-2- ^{14}C in tissue slices. *Cancer Res.*, **16**, 175 - 181.
- CHANDA N. K. (1958) - Pathological study of the liver in kwashiorkor. *Brit. Med. J.*, **1**, 1263 - 1266.
- CLELAND K. W. & SLATER E. C. (1953) - Respiratory granules of heart muscle. *Biochem. J.*, **53**, 547 - 556.
- CLOSE J. (1958) - Les modifications chimiques et morphologiques des cheveux, accompagnant le kwashiorkor. *Ann. Soc. belge méd. trop.*, **38**, 95 - 102.
- CLOUET D. H. & GAITONDE M. K. (1956) - The changes with age in the protein composition of the rat brain. *J. Neurochem.*, **1**, 126 - 133.
- COHEN S. & HANSEN J. D. L. (1962) - Metabolism of albumin and γ -globulin in kwashiorkor. *Clin. Sci.*, **23**, 351 - 359.
- CONWAY E.J. (1950) - *Microdiffusion analysis and volumetric error*. 1 vol., Crosby Lockwood, London.
- D'ADAMO A. F. & YATSU F. M. (1966) - Acetate metabolism in the nervous system. N-acetyl-L-aspartic acid and the biosynthesis of brain lipids. *J. Neurochem.*, **13**, 961 - 965.
- DAWSON R.M.C. (1953) - Cerebral amino acids in fluoroacetate-poisoned, anaesthetized and hypoglycaemic rats. *Biochim. biophys. Acta*, **11**, 548 - 552.
- DE ROBERTIS E., RODRIGUEZ DE LORES ARNAIZ G., SALGANICOFF L., PELLEGRINO DE IRALDI A. & ZIEHER L.M. (1963) - Isolation of synaptic vesicles and structural organization of the acetylcholine system within brain nerve endings. *J. Neurochem.*, **10**, 225 - 235.
- DESHMUKH D. S., MALATHI P. & GANGULY J. (1964) - Studies on metabolism of vitamin A. 5.-Dietary protein content and metabolism of vitamin A. *Biochem. J.*, **90**, 98 - 104.
- DISCHE Z. (1955) - Color reactions of nucleic acid components. In « *The nucleic acids* » (CHARGAFF E. & DAVIDSON J.N. ed.) Vol. **1**, 285 - 305, Academic Press, New-York.
- DONOSO G., BRUNSER O. & MÖNCKEBERG F. (1965) - Metabolism of serum albumin in marasmic infants. *J. Pediatr.*, **67**, 306 - 311.
- DURBIN P.A.J. & HEARD C.R.C. (1962) - Corticosteroid excretion in experimental protein-calorie deficiency in pigs. *Proc. Nutr. Soc.*, **21**, XXVIII - XXIX.
- DURBIN P.A.J., HEARD C.R.C. & PLATT B. S. (1960) - Glycogen and glucose-6-phosphatase in the liver of normal and protein deficient pigs. *Proc. Nutr. Soc.*, **19**, XXXV - XXXVI.
- EDOZIEN J. C. (1959) - Blood keto-acids in kwashiorkor. *Nature*, **184**, 1150
- EDOZIEN J. C. (1960) - The serum proteins in kwashiorkor. *J. Pediatr.*, **57**, 594 - 603.
- EDOZIEN J. C. (1961) - Enzymes in serum in kwashiorkor. *Pediatrics*, **27**, 325 - 333.
- EDOZIEN J. C. (1966) - The free amino acids of plasma and urine in kwashiorkor. *Clin. Sci.*, **31**, 153 - 166.

- EDOZIEN J. C. & PHILLIPS E. J. (1961) - Partition of urine nitrogen in kwashiorkor. *Nature*, **191**, 47 - 49.
- EDOZIEN J. C., PHILLIPS E. J. & COLLIS W.R.F. (1960) - The free aminoacids of plasma and urine in kwashiorkor. *Lancet*, **1**, 615 - 618.
- EDOZIEN J. C. & OBASI M. E. (1965) - Protein and amino acid metabolism in kwashiorkor. *Clin. Sci.*, **29**, 1 - 24.
- EDWARDS C. & KUFFLER S. W. (1959) - The blocking effect of γ -aminobutyric acid (gaba) and the action of related compounds on single nerve cells. *J. Neurochem.*, **4**, 19 - 30.
- ELLIOTT K.A.C. & FLOREY E. (1956) - Factor I. - Inhibitory factor from brain. Assay, conditions in brain, simulating and antagonizing substances. *J. Neurochem.* **1**, 181 - 191.
- ENGEL R. (1956) - Abnormal brain wave patterns in kwashiorkor. *EEG Clin. Neurophysiol.*, **8**, 489 - 500.
- ESH G. C., BHATTACHARYA S. & SOM J. M. (1960) - Studies on the utilization of vitamin A. Part IV. Influence of the level of protein on the storage and utilization of vitamin A. *Ann. Biochem. Exp. Med.*, **20**, 15 - 20.
- FISKE C. H. & SUBBAROW Y. (1925) - The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 - 400.
- FLOCK E. V. & BOLLMAN J. L. (1962) - Free amino acids in plasma, brain and muscle following hepatectomy. In « *Amino acid pools* » (HOLDEN J.T. ed.). 1 vol., Elsevier, Amsterdam, 449 - 460.
- FLOCK E. V., TYCE G. M. & OWEN C. A. (1966) - Utilization of (U- 14 C) glucose in brain after total hepatectomy in the rat. *J. Neurochem.*, **13**, 1389 - 1406.
- FOLCH J., ASCOLI I., LEES M., MEATH J. A. & LE BARON F. N. (1951) - Preparation of lipid extracts from brain tissue. *J. Biol. Chem.*, **191**, 833 - 841.
- FONTAINE R., MANDEL P. & GRIES A. (1950) - Nouvelles données sur l'évolution biochimique de l'os au cours du jeûne protéique prolongé chez le Rat. *C. R. Soc. Biol.*, **144**, 1397 - 1399.
- FOY H. & KONDI A. (1957) - Anaemias of the Tropics. Relation to iron intake, absorption and losses during growth, pregnancy and lactation. *J. Trop. Med. Hyg.*, **60**, 105 - 118.
- FREEMAN T. & GORDON A. H. (1964) - Metabolism of albumin and γ -globulin in protein deficient rats. *Clin. Sci.*, **26**, 17 - 26.
- FRENK S., GOMEZ F., RAMOS-GALVAN R. & CRAVIOTO J. (1958) - Fatty liver in children - kwashiorkor. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **6**, 298 - 309.
- FRIEND C. J., HEARD C.R.C., PLATT B.S., STEWART R.J.C. & TURNER M.R. (1960) - Correlation of albumin and vitamin A in the serum of protein-malnourished pigs. *Proc. Nutr. Soc.*, **19**, XXXIV - XXXV.
- FRIEND C. J., HEARD C.R.C., PLATT B.S., STEWART R.J.C. & TURNER M.R. (1961) - The effect of dietary protein deficiency on transport of vitamin A in the blood and its storage in the liver. *Brit. J. Nutr.*, **15**, 231 - 240.
- GAITONDE M.K. (1964) - The specific radioactivities of free amino acids in the rat brain after injection of uniformly labelled (14 C) glucose. *Biochem. J.*, **90**, 42 P.
- GAITONDE M.K., DAHL D. R. & ELLIOTT K.A.C. (1965) - Entry of glucose carbon into amino acids of rat brain and liver *in vivo* after injection of uniformly 14 C-labelled glucose. *Biochem. J.*, **94**, 345 - 352.
- GAITONDE M. K., MARCHI S. & RICHTER D. (1963) - The utilization of glucose in the brain and other organs of the cat. *J. Physiol.*, **168**, 48 P - 49 P.
- GAITONDE M. K., MARCHI S. & RICHTER D. (1964) - The utilization of glucose in the brain and other organs of the cat. *Proc. Roy. Soc.*, B **160**, 124 - 136.
- GAITONDE M. K., RICHTER D. & VRBA R. (1962) - Utilization of glucose in the rat brain. *Biochem. J.*, **84**, 105 P - 106 P.
- GARN S.M., ROHMANN C. G., BEHAR M., VITERI F. & GLUZMAN M.A. (1964) - Compact bone deficiency in protein-calorie malnutrition. *Science*, **145**, 1444.
- GARROW J. S. (1959) - The effect of protein depletion on the distribution of protein synthesis in the dog. *J. Clin. Invest.*, **38**, 1241 - 1250.

- GARROW J. S. (1965) - Total body-potassium in kwashiorkor and marasmus. *Lancet*, **2**, 455 - 458.
- GAYET J. & LEHR P. (1963) - Variation de l'activité de la décarboxylase de l'acide L (+) - glutamique de l'écorce cérébrale du Rat en inanition protéique. *C. R. Acad. Sc.*, **256**, 1844 - 1845.
- GEIGER A. (1958) - Correlation of brain metabolism and function by the use of a brain perfusion method *in situ*. *Physiol. Rev.*, **38**, 1 - 20.
- GEIGER A., KAWAKITA Y. & BARKULIS S. S. (1960) - Major pathways of glucose utilization in the brain in brain perfusion experiments *in vivo* and *in situ*. *J. Neurochem.*, **5**, 323 - 338.
- GILLMAN J., GILLMAN T., SCRAGG J., SAVAGE N., GILBERT C., TROUT G. & LEVY P. (1961) - Some aspects of the metabolism of kwashiorkor and of normal infants as determined by the utilization of l - ^{14}C sodium acetate, 2 - ^{14}C pyruvate and uniformly-labelled ^{14}C glucose. *S. Afr. J. Med. Sci.*, **26**, 31 - 61.
- GITLIN D., CRAVIOTO J., FRENK S., MONTANO E. L., GALVAN R. R., GOMEZ F. & JANEWAY C.A. (1958) - Albumin metabolism in children with protein malnutrition. *J. Clin. Invest.*, **37**, 682 - 686.
- GITLIN D. & JANEWAY C.A. (1957) - Plasma protein sparing effect of fats and carbohydrates. *Amer. J. Dis. Child.*, **93**, 79.
- GODWIN K.O. (1959) - An experimental study of nail growth. *J. Nutrition*, **69**, 121 - 127.
- GODWIN K.O. (1960) - Clinical and cytological manifestations of protein malnutrition in the skin of pigs. *Proc. Nutr. Soc.*, **19**, XXXVIII - XXXIX.
- GODWIN K. O. & PLATT B. S. (1960) - Pathological changes in the *pars anterior* of the hypophysis of animals maintained on low-protein diets. *Proc. Nutr. Soc.*, **19**, X.
- GOLDIS G.H. (1959) - Beiträge zum Studium des Liquor- und Blutkaliums bei chronischen Ernährungsstörungen des Säuglings. *Monatsschrift. Kinderheilkunde*, **107**, 371 - 375.
- GOLDSTEIN F. B. (1959 a) - Biosynthesis of N-acetyl-L-aspartic acid. *Biochim. biophys. Acta*, **33**, 583 - 584.
- GOLDSTEIN F. B. (1959 b) - Biosynthesis of N-acetyl-L-aspartic acid. *J. Biol. Chem.*, **234**, 2702 - 2706.
- GONNARD P. & FENARD S. (1962) - Décarboxylase glutamique et hydrazones de phospho-5-pyridoxal. *J. Neurochem.*, **9**, 135 - 142.
- GORDILLO G., SOTO R. A., METCOFF J., LOPEZ E. & ANTILLON L. G. (1957) - Intracellular composition and homeostatic mechanisms in severe chronic infantile malnutrition. III. Renal adjustments. *Pediatrics*, **20**, 303 - 316.
- GUPTA N. K. & ROBINSON W. G. (1961) - Urocanase and pyridoxal-5-phosphate. *Fed. Proc.*, **20**, 4.
- HAN K. K. (1961) - Thèse de Doctorat ès sciences physiques. Nancy.
- HANSEN J.D.L. & BROCK J. F. (1954) - Potassium deficiency in the pathogenesis of nutritional œdema in infants. *Lancet*, **2**, 477.
- HANSEN J.D.L. & JENKINSON V. (1956) - Electrolyte and nitrogen metabolism in kwashiorkor. *S. African J. Lab. and Clin. Med.*, **2**, 206 - 231.
- HASLAM R. J. & KREBS H. A. (1963) - The metabolism of glutamate in homogenates and slices of brain cortex. *Biochem. J.*, **88**, 566 - 578.
- HEARD C.R.C. (1957) - Prolidase and nitrogen content of intestinal mucosa in normal and protein-deficient animals. *Proc. Nutr. Soc.*, **16**, XI - XII.
- HEARD C.R.C. (1966) - Effects of severe protein-calorie deficiency on the endocrine control of carbohydrate metabolism. *Diabetes*, **15**, 78 - 89.
- HEARD C.R.C., DURBIN P.A.J. & PLATT B. S. (1961) - Delayed maturation of protein deficient pigs as indicated by response to intravenous insulin and glucose. *Proc. Nutr. Soc.*, **20**, XX.
- HEARD C.R.C., PLATT B. S. & STEWART R.J.C. (1958) - The effects on pigs of a low-protein diet with and without additional carbohydrate. *Proc. Nutr. Soc.*, **17**, XLI - XLII.

- HEARD C.R.C. & STEWART R.J.C. (1960) - Protein malnutrition and disorders of the endocrine glands : biochemical changes. *Acta endocrinol.*, suppl. **51**, 1277.
- HENDERSON L. M., SCHURR P. E. & ELVEJHEM C.A. (1949) - The influence of fasting and nitrogen deprivation on the concentration of free amino acids in rat plasma. *J. Biol. Chem.*, **177**, 815 - 823.
- HIGGINSON J. (1954) - Studies on human bone from South African Bantu subjects. II. Histopathological changes in the ribs of South African Bantu infants. *Metabolism*, **3**, 392 - 399.
- HIMWICH W.A., PETERSEN J.C. & ALLEN M. L. (1957) - Hematoencephalic exchange as a function of age. *Neurology*, **7**, 705 - 710.
- HIRATA A.A. & APPLEMAN D. (1959) - Microdetermination of phosphate in the range of 1 to 10 micrograms. *Anal. Chem.*, **31**, 2097 - 2099.
- HOLT L. E., SNYDERMAN S. E., NORTON P. M., ROITMAN E. & FINCH J. (1963) - The plasma aminogram in kwashiorkor. *Lancet*, **2**, 1343 - 1348.
- HOLTER H. & LINDERSTRÖM-LANG K. (1951) - Micromethods and their application in the study of enzyme distribution in tissues and cells. *Physiol. Rev.*, **31**, 432 - 448.
- HOTCHKISS R. D. (1955) - The biological role of the deoxypentose nucleic acids. In « *The nucleic acids* » (CHARGAFF E. & DAVIDSON J. N. ed.). vol **2**, 435 - 473, Academic Press, New-York.
- HUTCHISON W. C., RAMAIAH T. R., NEILSON F. J. & MUNRO H. N. (1960) - The influence of diet on the protein, nucleic acid and phospholipid content of the adrenal gland. *Proc. Nutr. Soc.*, **19**, XXIII.
- IRREVERRE F., EVANS R. L., HAYDEN A. R. & SILBER R. (1957) - Occurrence of γ -guanidinobutyric acid. *Nature*, **180**, 704 - 705.
- JACOB M., MANDEL L. & MANDEL P. (1951) - L'action du jeûne protéique prolongé sur les acides nucléiques de la rate et sa signification. *Experientia*, **7**, 269 - 271.
- JELLIFFE D. B. (1955) - Hypochromotrichia and malnutrition in Jamaican infants. *J. Trop. Pediat.*, **1**, 25 - 33.
- JELLIFFE D. B., BRAS G. & STUART K. L. (1954) - Kwashiorkor and marasmus in Jamaican infants. *West Indian Med. J.*, **3**, 43 - 55.
- JORDAN W. K., MARCH R., BOYD HOUGHIN O. & POPP E. (1959) - Intracellular partition of purine deaminases in rodent brain. *J. Neurochem.*, **4**, 170 - 174.
- JU J. S. & NASSET E. S. (1959) - Changes in total nitrogen content of some abdominal viscera in fasting and realimentation. *J. Nutrition*, **68**, 633 - 645.
- KEMENY T., SIMON G. & BEDÖ M. (1965) - Absorption tests on protein-deficient rats. Absorption of ^{35}S -methionine and ^{131}I - triolein. *Experientia*, **21**, 290 - 293.
- KING E. J. (1932) - The colorimetric determination of phosphorus. *Biochem. J.*, **26**, 292 - 297.
- KINI M. M. & QUASTEL J. H. (1959) - Carbohydrate - amino acid interrelations in brain cortex *in vitro*. *Nature*, **184**, 252 - 256.
- KIRK P. L. (1947) - The chemical determination of proteins. *Advances in Protein chemistry*, **3**, 139 - 167.
- KLAVINS J. V., KINNEY T. D. & KAUFMAN N. (1962) - The influence of dietary protein on iron absorption. *Brit. J. Exp. Pathol.*, **43**, 172 - 180.
- KNAUFF H. G. & BÖCK F. (1961) - Über die freien Gehirnaminosäuren und das Äthanolamin der normalen Ratte, sowie über das Verhalten dieser Stoffe nach experimentaler Insulinhypoglykämie. *J. Neurochem.*, **6**, 171 - 182.
- KNOWLES C. B. (1957) - Protein malnutrition in the pig. *Proc. Nutr. Soc.*, **16**, IX - X.
- KREBS H. A. & BELLAMY D. (1960) - The interconversion of glutamic acid and aspartic acid in respiring tissues. *Biochem. J.*, **75**, 523 - 529.
- KRINSKY N. I., CORNWELL D. G. & ONCLEY J. L. (1958) - The transport of vitamin A and carotenoids in human plasma. *Arch. Biochem. Biophys.*, **73**, 233 - 246.
- KRNEVIC K. (1964) - Micro-iontophoretic studies on cortical neurons. *Int. Rev. Neurobiology*, **7**, 41 - 98.
- KUTTNER T. & COHEN H. R. (1927) - Micro-colorimetric studies. I. A molybdic acid stannous chloride reagent. The micro-estimation of phosphate and calcium in pus, plasma and spinal fluid. *J. Biol. Chem.*, **75**, 517 - 531.

- LAHEY E., BEHAR M., VITERI F. & SCRIMSHAW N. S. (1958) - Values for copper, iron and iron-binding capacity in the serum in kwashiorkor. *Pediatrics*, **22**, 72 - 79.
- LAJTHA A., BERL S. & WAELSCH H. (1959) - Amino acid and protein metabolism of the brain. IV. The metabolism of glutamic acid. *J. Neurochem.*, **3**, 322 - 332.
- LEA C. M. & LUTTRELL V.A.S. (1965) - Copper content of hair in kwashiorkor. *Nature*, **206**, 413.
- LEHR P. & GAYET J. (1963) - Réponse de l'écorce cérébrale du Rat à un jeûne protéique prolongé. I. Poids, azote, acide désoxyribonucléique et protéines tissulaires. *J. Neurochem.*, **10**, 169 - 176.
- LEHR P. & GAYET J. (1966) - Response of the cerebral cortex of the rat to prolonged protein depletion. II. Free aspartic, glutamic and gamma-aminobutyric acids. *J. Neurochem.*, **13**, 805 - 810.
- LEHR P. & GAYET J. (1967) - Response of the cerebral cortex of the rat to prolonged protein depletion. III. Entry of glucose carbon into free amino acids *in vivo*. *J. Neurochem.*, **14**, 927 - 936.
- LESLIE I. (1955) - The nucleic acid content of tissues and cells. In « *The nucleic acids* » (CHARGAFF E. & DAVIDSON J. N. ed.). vol. **2**, 1 - 50, Academic Press, New-York.
- LINDBERG O. & ERNSTER L. (1956) - Determination of organic phosphorus compounds by phosphate analysis. In « *Methods of biochemical analysis* », **3**, 1 - 22, Interscience Publishers, New-York.
- LOVELL R. A. & ELLIOTT K.A.C. (1963) - The γ -aminobutyric acid and factor I content of brain. *J. Neurochem.*, **10**, 479 - 488.
- LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FARR A. L. & RANDALL R. J. (1951) - Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 - 275.
- LURIE A. O. & JACKSON W.P.U. (1962) - Adrenal function in kwashiorkor and marasmus. *Clin. Sci.*, **22**, 259 - 268.
- MAJAJ A. S., DINNING J. S., AZZAM S. A. & DARBY W. J. (1963) - Vitamin E responsive megaloblastic anemia in infants with protein-calorie malnutrition. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **12**, 374 - 379.
- MANDEL P. & BIETH R. (1951) - Fixation du terme de la croissance du cerveau chez le Rat par l'étude de l'acide désoxypentose nucléique. *Experientia*, **7**, 343 - 344.
- MANDEL P., JACOB M. & MANDEL L. (1950) - Etude sur le métabolisme des acides nucléiques. I. Action du jeûne protéique prolongé sur les deux acides nucléiques du foie, du rein et du cerveau. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **32**, 80 - 88.
- MANDEL P. & MARK J. (1965) - The influence of nitrogen deprivation on free amino acids in rat brain. *J. Neurochem.*, **12**, 987 - 992.
- MARRAZZI A. S., ROSS HART E. & RODRIGUEZ J. M. (1958) - Action of blood-borne gamma-aminobutyric acid on central synapses. *Science*, **127**, 284 - 285.
- MATHEWS J. & BEATON G. H. (1963) - Vitamin A and carotene utilization in protein deprived rats. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **41**, 543 - 549.
- Mc DONALD I. (1960) - Some evidence that a relative dietary excess of carbohydrate is an important aetiological factor in kwashiorkor. *Proc. Nutr. Soc.*, **19**, VII - VIII.
- Mc DONALD I. & GHARAVI E. M. (1960) - Some effects of dietary sucrose in experimental protein deficiency. *Proc. Nutr. Soc.*, **19**, XXIX - XXX.
- Mc DONALD I. & WARREN P. J. (1961) - The copper content of the liver and hair in kwashiorkor. *Proc. Nutr. Soc.*, **20**, XXXVI.
- Mc DOUGALL L. G. (1960) - The haematological picture in kwashiorkor and marasmus. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **54**, 37 - 43.
- Mc DOUGALL L. G. & ROSS G.I.M. (1960) - Serum vitamin B₁₂ concentrations in kwashiorkor and marasmus. *J. Pediat.*, **57**, 589 - 593.
- Mc ILWAIN H. (1966) - *Biochemistry and the central nervous system*. 1 vol., Churchill, London.
- Mc KHANN G. M., ALBERS R. W., SOKOLOFF L., MICKELSEN O. & TOWER D. B. (1960) - The quantitative significance of the gamma-aminobutyric acid pathway in cerebral oxidative metabolism. In « *Inhibition in the nervous system and gamma-aminobutyric acid* ». 1 vol., Pergamon Press, London, 169 - 181.

- MC KHANN G. M. & TOWER D. B. (1961) - Ammonia toxicity and cerebral oxidative metabolism. *Amer. J. Physiol.*, **200**, 420 - 424.
- MC KIBBIN J. M. & TAYLOR W. E. (1949) - The nitrogenous constituents of the tissue lipids. I. The extraction, purification and hydrolysis of tissue lipids. *J. Biol. Chem.*, **178**, 17 - 27.
- MC LAREN D. S. (1957) - Chronic protein deficiency and some congenital abnormalities of the eye of the rat. *Proc. Nutr. Soc.*, **16**, XXIII - XXIV.
- MEISTER A. (1965) - *Biochemistry of the amino acids*. 2 vol., Academic Press, New-York
- MENDES C. B. & WATERLOW J. C. (1958) - The effect of a low protein diet, and of refeeding, on the composition of liver and muscle in the weanling rat. *Brit. J. Nutr.*, **12**, 74 - 88.
- MERSKEY C. & HANSEN J.D.L. (1957) - Blood coagulation defects in kwashiorkor and infantile gastroenteritis. *Brit. J. Haemat.*, **3**, 39 - 49.
- METCOFF J., FRENK S., ANTONOWICZ I., GORDILLO G. & LOPEZ E. (1960) - Relations of intracellular ions to metabolite sequences in muscle in kwashiorkor. A new reference for assessing the significance of intracellular concentrations of ions. *Pediatrics*, **26**, 960 - 972.
- MEYER A., STEWART R.J.C. & PLATT B. S. (1961) - The spinal cord of pigs on low protein diets. *Proc. Nutr. Soc.*, **20**, XVIII.
- MITCHELL H. H. (1959) - Some species and age differences in amino acid requirements. In « *Protein and amino acid nutrition* » (ALBANESE A. A. ed.). 1 vol., Academic Press, New-York, 11 - 43.
- MITCHELL H. H. (1962) - *Comparative nutrition of man and domestic animals*. Vol. 1, Academic Press, New-York.
- MONTGOMERY R. D. (1960 a) - Magnesium metabolism in infantile protein malnutrition. *Lancet*, **2**, 74 - 75.
- MONTGOMERY R. D. (1960 b) - Magnesium deficiency and tetany in kwashiorkor. *Lancet*, **2**, 264.
- MONTGOMERY R. D., DICKERSON J.W.T. & MC CANCE R.A. (1964) - Severe undernutrition in growing and adult animals. 13. The morphology and chemistry of development and undernutrition in the Sartorius muscle of the fowl. *Brit. J. Nutr.*, **18**, 587 - 593.
- MOORE C. V. (1959 - 1960) - Iron metabolism and nutrition. *The Harvey Lectures*, **55**, 67 - 101.
- MORGAN C. (1965) - *La faim dans le monde*. 1 vol., Diagrammes n° 99, Ed. du Cap, Monaco.
- MUKHERJEE K. L. & SARKAR N. K. (1958) - Liver enzymes in human undernutrition. *Brit. J. Nutr.*, **12**, 1 - 7.
- MUNRO H. N. (1964) - General aspects of the regulation of protein metabolism by diet and by hormones. In « *Mammalian protein metabolism* » (MUNRO H. N. & ALLISON J. B. ed.). Vol. 1, 381 - 481, Academic Press, New-York.
- MUNRO H. N. & CLARK C. M. (1960) - The nutritional regulation of ribonucleic acid metabolism in the liver cell. *Proc. Nutr. Soc.*, **19**, 55 - 60.
- MUNRO H. N. & GOLDBERG D. M. (1964) - The effect of protein intake on the protein and nucleic acid metabolism of the intestinal mucosal cell. In « *The role of the gastrointestinal tract in protein metabolism* » (MUNRO H. N. ed.). 1 vol., Blackwell, Oxford, 189 - 198.
- MUNRO H. N., HUTCHISON W. C., RAMAIAH T. R. & NEILSON F. J. (1962) - The influence of diet on the weight and chemical constituents of the rat adrenal gland. *Brit. J. Nutr.*, **16**, 387 - 395.
- MUNRO H. N., WADDINGTON S. & BEGG D. J. (1965) - Effect of protein intake on ribonucleic acid metabolism in liver cell nuclei of the rat. *J. Nutrition*, **85**, 319 - 328.
- MURAMATSU K. & ASHIDA K. (1962) - Effect of dietary protein level on growth and liver enzyme activities of rats. *J. Nutrition*, **76**, 143 - 150.

- MURAMATSU K., SATO T. & ASHIDA K. (1963) - Dietary protein level and the turnover rate of tissue proteins in rats. *J. Nutrition*, **81**, 427 - 433.
- MURRAY T. K. (1961) - Effect of protein-free diet on the vitamin A storage and depletion in the rat. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **39**, 1099 - 1101.
- NARASINGA RAO B. S. & GOPALAN C. (1957) - Some aspects of the hair changes in kwashiorkor. *Ind. J. Med. Res.*, **45**, 85 - 93.
- NELSON G. K. & DEAN R.F.A. (1959) - The electroencephalogram in African children : effects of kwashiorkor and a note on the newborn. *Bull. World Health Organization*, **21**, 779 - 782.
- O'NEAL R. M. & KCEPPE R. E. (1966) - Precursors *in vivo* of glutamate, aspartate and their derivatives of rat brain. *J. Neurochem.*, **13**, 835 - 847.
- OTSUKI S., GEIGER A. & GOMBOS G. (1963) - The metabolic pattern of the brain in brain perfusion experiments *in vivo*. I. The quantitative significance of CO₂ assimilation in the metabolism of the brain. *J. Neurochem.*, **10**, 397 - 404.
- PAYNE P. R. & DONE J. (1959) - The equilibration of water and of serum albumin labelled with tritium, in the body fluids of pigs maintained on normal, low protein and low protein plus carbohydrate diets. *Proc. Nutr. Soc.*, **18**, VI - VII.
- PETERS J.M. & BOYD E.M. (1966) - Organ weights and water levels of the rat following reduced food intake. *J. Nutrition*, **90**, 354 - 360.
- PICOU D. & WATERLOW J. C. (1962) - The effect of malnutrition on the metabolism of plasma albumin. *Clin. Sci.*, **22**, 459 - 468.
- PIETTE C. & ASCHKENASY A. (1961) - Retentissement de la carence alimentaire en protéines sur l'iode thyroïdien et l'iode protidique plasmatique chez le Rat. *C. R. Soc. Biol.*, **155**, 982 - 986.
- PIMSTONE B. L., WITTMANN W., HANSEN J.D.L. & MURRAY P. (1966) - Growth hormone and kwashiorkor. *Lancet*, **2**, 779 - 780.
- PLATT B. S. (1961) - Malnutrition and the central nervous system. In « *Chemical pathology of the nervous system* » (FOLCH-Pi J. ed.). 1 vol., Pergamon Press, Oxford, 114 - 119.
- PLATT B. S. & FRANKUL W. (1962) - The influence of a low protein diet on the level of zinc and iron in the serum and liver of the pig. *Proc. Nutr. Soc.*, **21**, VII - VIII.
- PLATT B. S., HALDER K. & DÖLL B. H. (1962) - Pathology of acute experimental protein malnutrition in the force-fed rat. *Proc. Nutr. Soc.*, **21**, VI - VII.
- PLATT B. S., HEARD C.R.C. & STEWART R.J.C. (1964) - Experimental protein-calorie deficiency. In « *Mammalian protein metabolism* » (MUNRO H. N. & ALLISON J. B. ed.). vol., **2**, 445 - 521, Academic Press, New-York.
- PLATT B. S., HEARD C.R.C. & STEWART R.J.C. (1964 a) - The effects of protein-calorie deficiency on the gastrointestinal tract. In « *The role of the gastrointestinal tract in protein metabolism* » (MUNRO H. N. ed.). 1 vol., Blackwell, Oxford, 227 - 238.
- PLATT B. S. & NAGCHAUDHURI J. (1954) - Malnutrition and hair pigmentation. *Proc. Nutr. Soc.*, **12**, IX - X.
- PLATT B. S. & STEWART R.J.C. (1960) - The central nervous system of pigs on low protein diets. *Proc. Nutr. Soc.*, **19**, VIII - IX.
- PLATT B. S. & STEWART R.J.C. (1962 a) - The thyroid glands of protein-malnourished pigs. *Proc. Nutr. Soc.*, **21**, V - VI.
- PLATT B. S. & STEWART R.J.C. (1962 b) - Transverse trabeculae and osteoporosis in bones in experimental protein-calorie deficiency. *Brit. J. Nutr.*, **16**, 483 - 495.
- POLONOVSKI M. (1961) - *Biochimie médicale*. 1 vol., Masson & C^{ie}, Paris.
- PORCELLATI G. & THOMPSON R.H.S. (1957) - The effect of nerve section on the free amino acids of nervous tissue. *J. Neurochem.*, **1**, 340 - 347.
- PRATT C.W.M. & McCANCE R.A. (1960) - Severe undernutrition in growing and adult animals. 2. - Changes in the long bones of growing cockerels held at fixed weights by undernutrition. *Brit. J. Nutr.*, **14**, 75 - 84.

- PREGL F. (1923) - *Die quantitative organische Mikroanalyse*. 2. Aufl. Berlin.
- PURPURA D. P., GIRADO M. & GRUNDFEST H. (1957) - Selective blockade of excitatory synapses in the cat brain by γ -aminobutyric acid. *Science*, **125**, 1200 - 1202.
- PURPURA D.P., GIRADO M., SMITH T.G. & GOMEZ J.A. (1958) - Synaptic effects of systemic γ -aminobutyric acid in cortical regions of increased vascular permeability. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **97**, 348 - 353.
- RAJAGOPAL RAO D., DEODHAR A.D. & HARIHARAN K. (1965) - Histidine metabolism in experimental protein malnutrition in rats. *Biochem. J.* **97**, 311 - 317.
- RAJALAKSHMI R., GOVINDARAJAN K. R. & RAMAKRISHNAN C.V. (1965) - Effect of dietary protein content on visual discrimination, learning and brain biochemistry in the albino rat. *J. Neurochem.*, **12**, 261 - 271.
- RAMALINGASWAMI V., VICKERY A.L., STANBURY J.B. & HEGSTED D.M. (1965) - Some effects of protein deficiency on the rat thyroid. *Endocrinology*, **77**, 87 - 95.
- RANGAM C. M., BHAGWAT A. G. & GUPTA J. C. (1962) - Cutaneous lesions in kwashiorkor. A histopathological and histochemical study. *Ind. J. Med. Res.*, **50**, 184 - 190.
- RECHCIGL M., BERGER S., LOOSLI J.K. & WILLIAMS H.H. (1959 a) - Effect of protein free diet on the vitamin A storage in the rat liver. *Nature*, **183**, 1597.
- RECHCIGL M., BERGER S., LOOSLI J.K. & WILLIAMS H.H. (1959 b) - Effect of « amino acid imbalance » on growth and vitamin A storage in the white rat. *Nature*, **184**, 1404.
- RECHCIGL M., BERGER S., LOOSLI J.K. & WILLIAMS H.H. (1962) - Dietary protein and utilization of vitamin A. *J. Nutrition*, **76**, 435 - 440.
- RICHARDSON L.R., HALE F. & RITCHEY S.J. (1965) - Effect of fasting and level of dietary protein on free amino acids in pig plasma. *J. Animal Science*, **24**, 368-372.
- RICHTER D. & DAWSON R.M.C. (1948) - The ammonia and glutamine content of the brain. *J. Biol. Chem.*, **176**, 1199 - 1210.
- ROBERTS E. (1956) - Formation and utilization of γ -aminobutyric acid in brain. In « *Progress in Neurobiology I. Neurochemistry* » (KOREY S.R. & NURNBERGER J.I. ed.). 1 vol., Hoeber-Harper, New-York, 11 - 25.
- ROBERTS E. (1962) - γ -aminobutyric acid. In « *Neurochemistry* » (ELLIOTT K.A.C., PAGE I.H. & QUASTEL J.H. ed.). 1 vol., Thomas, Springfield, 636 - 656.
- ROBERTS E. & EIDELBERG E. (1960) - Metabolic and neurophysiological roles of γ -aminobutyric acid. *Intern. Rev. neurobiology*, **2**, 279 - 332.
- ROBERTS E. & FRANKEL S. (1950) - γ -aminobutyric acid in brain : its formation from glutamic acid. *J. Biol. Chem.*, **187**, 55 - 63.
- ROBERTS E. & FRANKEL S. (1951 a) - Glutamic acid decarboxylase in brain. *J. Biol. Chem.*, **188**, 789 - 795.
- ROBERTS E. & FRANKEL S. (1951 b) - Further studies of glutamic acid decarboxylase in brain. *J. Biol. Chem.*, **190**, 505 - 512.
- ROBERTS E. & SIMONSEN D.G. (1963) - Some properties of L-glutamic decarboxylase in mouse brain. *Biochem. Pharmacol.*, **12**, 113 - 134.
- ROBERTS E., YOUNGER F. & FRANKEL S. (1951) - Influence of dietary pyridoxine on glutamic decarboxylase activity of brain. *J. Biol. Chem.*, **191**, 277 - 285.
- ROBERTS E., WEIN J. & SIMONSEN D.G. (1964) - γ -aminobutyric acid (gaba), vitamin B₆, and neuronal function. A speculative synthesis. *Vitamins and Hormones*, **22**, 503 - 559.
- ROBERTS R.B., FLEXNER J.B. & FLEXNER L.B. (1959) - Biochemical and physiological differentiation during morphogenesis. XXIII. Further observations relating to the synthesis of amino acids and proteins by the cerebral cortex and liver of the mouse. *J. Neurochem.*, **4**, 78 - 90.
- ROBERTS S. (1963) - Regulation of cerebral metabolism of amino acids. II. Influence of phenylalanine deficiency on free and protein-bound amino acids in rat cerebral cortex : relationship to plasma levels. *J. Neurochem.*, **10**, 931 - 940.
- ROGERS O.R. & HARPER A.E. (1964) - Transfer rates along the gastrointestinal tract. In « *The role of the gastrointestinal tract in Protein metabolism* » (MUNRO H.N. ed.). 1 vol., Blackwell, Oxford, 3 - 24.

- ROUCAYROL J.C., OBERHAUSER E. & SCHUSSLER R. (1957) - Liquid scintillators in filter paper. A new detector. *Nucleonics*, **15**, 104 - 108.
- SALGANICOFF L. & DE ROBERTIS E. (1965) - Subcellular distribution of the enzymes of the glutamic acid, glutamine and γ -aminobutyric acid cycles in rat brain. *J. Neurochem.*, **12**, 287 - 309.
- SANDSTEAD H.H., SHUKRY A.S., PRASAD A.S., GABR M.K., EL HIFNEY A., MOKHTAR N. & DARBY W.J. (1965 a) - Kwashiorkor in Egypt. I. Clinical and biochemical studies, with special reference to plasma zinc and serum lactic dehydrogenase. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **17**, 15 - 26.
- SANDSTEAD H. H., GABR M. K., AZZAM S., SHUKRY A.S., WEILER R. J., EL DIN O.M., MOKHTAR N., PRASAD A. S., EL HIFNEY A. & DARBY W. J. (1965 b) - Kwashiorkor in Egypt. II. Hematologic aspects (the occurrence of a macrocytic anaemia associated with low serum vitamin E and a wide range of serum vitamin B₁₂ levels. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **17**, 27 - 35.
- SATOSKAR R. S., KULKARNI B. S., MEHTA B. M., SANZGIRI R. R. & BAMJI M. S. (1962) - Serum vitamin B₁₂ and folic acid (PGA) levels in hypoproteinaemia and marasmus in Indian children. *Arch. Disease Childhood*, **37**, 9 - 16.
- SCHILLER K. & OCIO E. (1963) - Untersuchungen über den ernährungsphysiologischen Wert von Casein. *Z. Tierphys. Tierern. u. Futtermittelkunde*, **18**, 166 - 174.
- SCHMIDT G. & THANNHAUSER S.J. (1945) - A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **161**, 83 - 89.
- SCHNEIDER W. C. (1945) - Phosphorus compounds in animal tissues. I. Extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and of pentose nucleic acid. *J. Biol. Chem.*, **161**, 293 - 303.
- SCHNEIDER W. C. (1946) - Phosphorus compounds in animal tissues. III. A comparison of methods for the estimation of nucleic acids. *J. Biol. Chem.*, **164**, 747 - 751.
- SCHREIER K. & KAZASSIS C. (1960) - Influence of different types of malnutrition on the ¹⁴C lysine metabolism in young rats. *Nature*, **187**, 1117 - 1118.
- SCHWERIN P., BESSMAN S.P. & WAELSCH H. (1950) - The uptake of glutamic acid and glutamine by brain and other tissues of the rat and mouse. *J. Biol. Chem.*, **184**, 37 - 44.
- SCRIMSHAW N. S. & BEHAR M. (1961) - Protein malnutrition in young children. *Science*, **133**, 2039 - 2047.
- SCRIMSHAW N. S., BEHAR M., ARROYAVE G., TEJADA C. & VITERI F. (1957) - Kwashiorkor in children and its response to protein therapy. *J. A. M. A.*, **164**, 555-561.
- SIDRANSKY H. (1960) - Chemical pathology of nutritional deficiency induced by certain plant proteins. *J. Nutrition*, **71**, 387 - 395.
- SLONE D., TAITZ L. S. & GILCHRIST G. S. (1961) - Aspects of carbohydrate metabolism in kwashiorkor with special reference to spontaneous hypoglycaemia. *Brit. Med. J.*, **1**, 32 - 34.
- SMITH R. (1959) - Urinary acidification defect in chronic infantile malnutrition. *Lancet*, **1**, 764.
- SMITH R. & WATERLOW J.C. (1960) - Total exchangeable potassium in infantile malnutrition. *Lancet*, **1**, 147 - 149.
- SMYTHE P.M., SWANEPOEL A. & CAMPBELL J.A.H. (1962) - The heart in kwashiorkor. *Brit. Med. J.*, **1**, 67 - 73.
- SOOD S.K., DEO M.G. & RAMALINGASWAMI V. (1965) - Anemia in experimental protein deficiency in the Rhesus Monkey with special reference to iron metabolism. *Blood*, **26**, 421 - 432.
- SPECTOR W. S. (1956) - *Handbook of biological data*. 1 vol., W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- SPIRITES M. A. & ALPER C. (1961) - The effect of niacin-deficient, tryptophan-low and protein-deficient diets on the DPN/DPNH ratio in mouse liver. *J. Nutrition*, **73**, 374 - 378.

- SQUIRES B. T. (1961) - The buccal mucosa of the African in malnutrition. *Proc. Nutr. Soc.*, **20**, XIX.
- SQUIRES B. T. (1962) - The buccal mucosa in pigs on a protein deficient diet with and without added carbohydrate. *Proc. Nutr. Soc.*, **21**, XXXIII.
- SQUIRES B. T. (1963) - The buccal mucosa in protein-calorie deficiency in the pig. *Brit. J. Nutr.*, **17**, 303 - 307.
- SREBNIK H. H., NELSON M. M. & SIMPSON M. E. (1961) - Follicle-stimulating hormone (FSH) and interstitial-cell-stimulating hormone (ICSH) in pituitary and plasma of intact and ovariectomized protein-deficient rats. *Endocrinology*, **68**, 317 - 326.
- SREBNIK H. H. & NELSON M. M. (1962) - Anterior pituitary function in male rats deprived of dietary protein. *Endocrinology*, **70**, 723 - 730.
- SRINIVASAN P. R. & PATWARDHAN V. N. (1952) - Plasma esterase and plasma lipase levels in nutritional oedema syndrome (kwashiorkor). *Lancet*, **2**, 864 - 866.
- STANDARD K. L., WILLS V. G. & WATERLOW J. C. (1959) - Indirect indicators of muscle mass in malnourished infants. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **7**, 271 - 280.
- STEWART R.J.C. & HEARD C.R.C. (1959) - Pancreatic islet cells and blood-sugar regulation in pigs maintained on low protein diets. *Proc. Nutr. Soc.*, **18**, X - XI.
- STEWART R.J.C. & HEARD C.R.C. (1960) - Protein malnutrition and disorders of the endocrine glands : morphological changes. *Acta endocr. Copenhagen*, suppl. **51**, 1313.
- STEWART R.J.C. & PLATT B.S. (1961) - Dietary protein deficiency and the growth and mineralization of the bones of the pig. *Proc. Nutr. Soc.*, **20**, XLVI - XLVII.
- STEWART G. S. & SCOTT M. L. (1961) - Effect of protein on utilization of vitamin A in the chick. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **106**, 635 - 638.
- STRECKER H. J. (1957) - Glutamic acid and glutamine. In « *Metabolism of the nervous system* » (RICHTER D. ed.). 1 vol., Pergamon Press, London, 459 - 474.
- SUSZ J. P., HABER B. & ROBERTS E. (1966) - Purification and some properties of mouse brain L-glutamic decarboxylase. *Biochemistry*, **5**, 2870 - 2877.
- TAKAGAKI G., BERL S., CLARKE D.D., PURPURA D.P. & WAELSCH H. (1961) - Glutamic acid metabolism in brain and liver during infusion with ammonia labelled with nitrogen-15. *Nature*, **189**, 326.
- TALLAN H. H., MOORE S. & STEIN W. H. (1956) - N-acetyl-L-aspartic acid in brain. *J. Biol. Chem.*, **219**, 257 - 264.
- TEJADA C. (1958) - Relation of thyroid changes to nutritional status. *Fed. Proc.*, **17**, 66 - 72.
- TEJADA C. & RUSSFIELD A. B. (1957) - A preliminary report on the pathology of the pituitary gland in children with malnutrition. *Arch. Dis. Child.*, **32**, 343 - 346.
- THERON J.J., PRETORIUS P.J., WOLF H. & JOUBERT C.P. (1961) - The state of pyridoxine nutrition in patients with kwashiorkor. *J. Pediat.*, **59**, 439 - 450.
- THOMPSON H.T., SCHURR P.E., HENDERSON L.M. & ELVEJHEM C.A. (1950) - The influence of fasting and nitrogen deprivation on the concentration of free amino acids in rat tissues. *J. Biol. Chem.*, **182**, 47 - 53.
- TOWER D. B. (1960) - The neurochemistry of asparagine and glutamine. In « *The neurochemistry of nucleotides and amino acids* » (BRADY R. O. & TOWER D. B. ed.). 1 vol., Wiley & Sons, New-York, 173 - 204.
- TROWELL H. C., MOORE T. & SHARMAN I. M. (1954) - Vitamin E and carotenoids in the blood plasma in kwashiorkor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **57**, 734 - 736.
- TROWELL H. C. & SIMPKISS M. J. (1957) - Intramuscular iron in the treatment of the anaemia associated with kwashiorkor. *Lancet*, **2**, 265 - 267.
- TSUKADA Y., HIRANO S., NAGATA Y. & MATSUTANI T. (1960) - Metabolic studies of gamma-aminobutyric acid in mammalian tissues. In « *Inhibition in the nervous system and gamma-aminobutyric acid* », 1 vol., Pergamon Press, Oxford, 163-168.
- UDENFRIEND S. (1950) - Identification of γ -aminobutyric acid in brain by the isotope derivative method. *J. Biol. Chem.*, **187**, 65 - 69.

- UMANA R. (1965) - Effect of protein malnutrition on the DNA content of rat liver. *J. Nutrition*, **85**, 169 - 173.
- UNDERWOOD E. J. (1959) - Mineral metabolism. *Ann. Rev. Biochem.*, **28**, 499 - 526.
- VAN BOGAERT L., RADERMECKER M.A., JANSSEN P. & GATERA F. (1962) - The muscular lesions of kwashiorkor compared with those of other oedematous conditions and malnutrition in the Congolese infant. *Acta Neuropathologica*, **1**, 363 - 383.
- VAN GELDER N. M. & ELLIOTT K.A.C. (1958) - Disposition of γ -aminobutyric acid administered to mammals. *J. Neurochem.*, **3**, 139 - 143.
- VAN HARREVELD A. (1959) - Compounds in brain extracts causing spreading depression of cerebral cortical activity and contraction of crustacean muscle. *J. Neurochem.*, **3**, 300 - 315.
- VAN HARREVELD A. (1960) - Physiological effects of glutamate and some related compounds. In « *Inhibition in the nervous system and gamma-aminobutyric acid* » 1 vol., Pergamon Press, Oxford, 454 - 459.
- VENDRELY R. (1955) - The deoxyribonucleic acid content of the nucleus. In « *The nucleic acids* » (CHARGAFF E. & DAVIDSON J. N. ed.). Vol., **2**, 155 - 180, Academic Press, New-York.
- VIKBLADH I. (1951) - Zinc in the mammalian organism. A survey of data in recent literature. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **3**, suppl. **2**, 9 - 12.
- VITERI F., BEHAR M., ARROYAVE G. & SCRIMSHAW N. S. (1964) - Clinical aspects of protein malnutrition. In « *Mammalian protein metabolism* » (MUNRO H. N. & ALLISON J. B. ed.). Vol., **2**, 523 - 568, Academic Press, New-York.
- VOLKIN E. & COHN W. E. (1954) - Estimation of nucleic acids. In « *Methods of biochemical analysis* », **1**, 287 - 305, Interscience Publishers, New-York.
- VRBA R. (1956) - On the participation of the glutamic acid - glutamine system in metabolic processes in the rat brain during physical exercise. *J. Neurochem.*, **1**, 12-17.
- VRBA R. (1962) - Glucose metabolism in rat brain *in vivo*. *Nature*, **195**, 663 - 665.
- VRBA R., FOLBERG J. & KANTUREK V. (1957) - Ammonia formation in brain cortex slices. *Nature*, **179**, 470 - 471.
- VRBA R., GAITONDE M. K. & RICHTER D. (1962) - The conversion of glucose carbon into protein in the brain and other organs of the rat. *J. Neurochem.*, **9**, 465 - 475.
- WAELSCH H. (1962 a) - Amino acid and protein metabolism. In « *Neurochemistry* » (ELLIOTT K.A.C., PAGE I.H. & QUASTEL J.H. ed.). 1 vol., Thomas, Springfield, 288 - 320.
- WAELSCH H. (1962 b) - *In vivo* compartments of glutamic acid metabolism in brain and liver. In « *Amino acid pools* » (HOLDEN J.T. ed.). 1 vol., Elsevier, Amsterdam, 722 - 730.
- WAINIO W. W., EICHEL B., EICHEL H. J., PERSON P., ESTES F. L. & ALLISON J. B. (1953) - Oxidative enzymes of the liver in protein depletion. *J. Nutrition*, **49**, 465 - 483.
- WAINIO W. W., ALLISON J. B., EICHEL B., PERSON P. & ROWLEY G. R. (1954) - Enzymes in protein depletion. II. Oxidative enzymes of heart ventricle. *J. Nutrition*, **52**, 565 - 573.
- WAINIO W. W., ALLISON J. B., KREMZNER L. T., BERNSTEIN E. & ARONOFF M. (1959) - Enzymes in protein depletion. III. Enzymes of brain, kidney, skeletal muscle and spleen. *J. Nutrition*, **67**, 197 - 204.
- WALKER A.R.P. & ARVIDSSON U.B. (1954) - Studies on human bone from South African Bantu subjects. I. Chemical composition of ribs from subjects habituated to a diet low in calcium. *Metabolism*, **3**, 385 - 391.
- WANNEMACHER R. W. (1961) - Incorporation of ^{35}S from L-methionine in tumor-bearing and protein depleted rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **107**, 277 - 280.
- WANNEMACHER R. W., RUSSEL T. J. & ALLISON J. B. (1963) - Serum and liver protein metabolism in protein-depleted dogs. *J. Nutrition*, **80**, 315 - 320.
- WARTER J., ARON Cl. & ASCH L. (1958) - Activité thyroïdienne et fonction thyroïdienne préhypophysaire au cours du jeûne protidique chez le Rat. *C. R. Soc. Biol.*, **152**, 843 - 845.

- WATERLOW J. C. (1958) - Observations on enzymes in the human liver. General considerations and preliminary results. *West Indian Med. J.*, **7**, 44 - 52.
- WATERLOW J. C. (1959 a) - Protein nutrition and enzyme changes in man. *Fed. Proc.*, **18**, 1143 - 1155.
- WATERLOW J. C. (1959 b) - Effect of protein depletion on the distribution of protein synthesis. *Nature*, **184**, 1875 - 1876.
- WATERLOW J. C. & MENDES C. B. (1957) - Composition of muscle in malnourished human infants. *Nature*, **180**, 1361 - 1362.
- WATERLOW J. C. & WEISZ T. (1956) - The fat, protein and nucleic acid content of the liver in malnourished human infants. *J. Clin. Invest.*, **35**, 346 - 354.
- WEIL - MALHERBE H. (1962) - Ammonia metabolism in the brain. In « *Neurochemistry* » (ELLIOTT K.A.C., PAGE I. H. & QUASTEL J.H. ed.). 1 vol., Thomas, Springfield, 321 - 330.
- WEIL - MALHERBE H. & DRYSDALE A. C. (1957) - Ammonia formation in brain. III. The role of the protein amide groups and of hexosamines. *J. Neurochem.*, **1**, 250 - 255.
- WEIMER H. E., CARPENTER C. M., NAYLOR-FOOTE A.W.C., Mc KEE R.W. & NISHIHARA H. (1959) - Effects of inanition, protein depletion and repletion on serum lactic acid dehydrogenase levels in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **101**, 344 - 346.
- WEIMER H. E. & NISHIHARA H. (1959) - The influence of the protein level of the diet on serum glycoprotein concentrations in the rat. *J. Nutrition*, **67**, 137 - 147.
- WEINSTEIN H., ROBERTS E. & KAKEFUDA T. (1963) - Studies of sub-cellular distribution of γ -aminobutyric acid and glutamic decarboxylase in mouse brain. *Biochem. Pharmacol.*, **12**, 503 - 509.
- WHITEHEAD R. G. (1964 a) - Rapid determination of some plasma amino acids in subclinical kwashiorkor. *Lancet*, **1**, 250 - 252.
- WHITEHEAD R. G. (1964 b) - Amino acid metabolism in kwashiorkor. I. Metabolism of histidine and imidazole derivatives. *Clin. Sci.*, **24**, 271 - 278.
- WHITEHEAD R. G. & ARNSTEIN H. R. V. (1961) - Imidazole acrylic acid excretion in kwashiorkor. *Nature*, **190**, 1105 - 1106.
- WHITEHEAD R. G. & HARLAND P. S. E. G. (1966) - Blood glucose, lactate and pyruvate in kwashiorkor. *Brit. J. Nutr.*, **20**, 825 - 831.
- WHITEHEAD R. G. & MATTHEW C. E. (1960) - The analysis of urine of children suffering from kwashiorkor. *East African Med. J.*, **37**, 384 - 390.
- WHITEHEAD R. G. & MILBURN T. R. (1962) - Metabolites of phenylalanine in the urine of children with kwashiorkor. *Nature*, **196**, 580 - 581.
- WHITEHEAD R. G. & MILBURN T. R. (1964) - Amino acid metabolism in kwashiorkor. II. Metabolism of phenylalanine and tyrosine. *Clin. Sci.*, **26**, 279 - 289.
- WHITTAKER V. P. (1959) - The isolation and characterization of acetylcholine - containing particles from brain. *Biochem. J.*, **72**, 694 - 706.
- WHITTAKER V. P. (1965) - The application of subcellular fractionation techniques to the study of brain function. *Prog. Biophys. mol. biol.*, **15**, 39 - 96.
- WHITTAKER V. P. & SHERIDAN M. N. (1965) - The morphology and acetylcholine content of isolated cerebral synaptic vesicles. *J. Neurochem.*, **12**, 363 - 372.
- WIAME J. M. (1947) - A high phosphorus, basophilic metachromatic substance from yeast. *Biochim. biophys. Acta*, **1**, 234 - 255.
- WIDDOWSON E. M. & DICKERSON J.W.T. (1966) - Studies on protein deficiency and calorie deficiency in rats. 2. Haematocrit, and haemoglobin and plasma protein concentrations. *Proc. Nutr. Soc.*, **25**, XXXII.
- WIDDOWSON E. M. & WHITEHEAD R. G. (1966) - Plasma amino acid ratios and urinary hydroxyproline excretions in rats deficient in protein and calories. *Nature*, **212**, 683 - 686.
- WILLIAMS J. N. (1961 a) - Response of the liver to prolonged protein depletion. I. Liver weight, nitrogen and deoxyribonucleic acid. *J. Nutrition*, **73**, 199 - 209.

- WILLIAMS J. N. (1961 b) - Response of the liver to prolonged protein depletion. II. The succinic oxidase system and its component enzymes. *J. Nutrition*, **73**, 210-228.
- WILLIAMS J. N. (1964) - Response of the liver to prolonged protein depletion. IV. Protection of succinic oxidase and succinic dehydrogenase by dietary methionine and cystine in a protein-free ration. *J. Nutrition*, **82**, 51 - 60.
- WILLIAMS J. N. & HURLEBAUS A. J. (1965 a) - Response of the liver to prolonged protein depletion. V. Neutral glycerides and cholesterol; production of fatty livers by certain amino acids fed in a protein-free ration. *J. Nutrition*, **85**, 73 - 81.
- WILLIAMS J. N. & HURLEBAUS A. J. (1965 b) - Response of the liver to prolonged protein depletion. VI. Total phospholipids and plasmalogens, and protection of phospholipids by methionine and cystine. *J. Nutrition*, **85**, 82 - 88.
- WILLIAMS J. N., JACOBS R. M. & HURLEBAUS A. J. (1966) - Correlation of liver cytochrome oxidase activity with mitochondrial cytochrome oxidase and phospholipid concentrations in protein deficient rats. *J. Nutrition*, **90**, 81 - 85.
- WINICK M. & NOBLE A. (1966) - Cellular response in rats during malnutrition at various ages. *J. Nutrition*, **89**, 300 - 306.
- YUILE C. L., LUCAS F. V., NEUBECKER R. D. & WHIPPLE G. H. (1955) - Reduction of extravascular - extracellular proteins in protein - depleted dogs. *Fed. Proc.*, **14**, 424 - 425.



TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos	9
Introduction	13
I. LA CARENCE EN PROTEINES	15
I) Signes cliniques	15
1) Oedème et muscles striés	15
2) Peau et phanères	17
3) Les os	20
4) Les yeux	21
II) Sang et appareil circulatoire	22
1) Anémie et leucopénie	22
2) Matières minérales	23
3) Vitamines	25
4) Protéines et acides aminés	29
5) Enzymes sériques	32
6) Glucides	32
7) Lipides	33
8) Le cœur	34
III) Reins et urine	34
1) Reins	34
2) Urine	35
A) Volume	35
B) Substances azotées	35
IV) Tube digestif	38
1) Cavité buccale	38
2) Estomac	38
3) Intestin	38
4) La rate	39
5) Pancréas exocrine	39
6) Foie	40
A) Lipides	40
B) Protéines	41
C) Enzymes hépatiques	43
D) Glucides	44
V) Glandes endocrines	45
1) Hypophyse	45
2) Thyroïde	46
3) Pancréas endocrine	47
4) Surrénales	48
VI) Système nerveux central	49
Conclusion	51
II) LE JEUNE PROTEIQUE CHEZ LE RAT	52
III) LE CORTEX CEREBRAL DU RAT : POIDS FRAIS, ADN, AZOTE	
TOTAL ET AZOTE PROTEIQUE	56
I) Poids du cortex cérébral frais	56
II) L'acide désoxyribonucléique	57
1) Techniques	57
a) Extraction de l'ADN	57
b) Minéralisation du phosphate	58
c) Dosage du phosphore	59
2) Résultats	62
III) L'azote total	63
1) Techniques	63
2) Résultats	64

IV) Azote protéique - Protéines	65
1) Techniques	65
a) Extraction des protéines	65
b) Dosage de l'azote protéique	65
2) Résultats	66
Conclusion	67
IV) LES ACIDES GLUTAMIQUE, γ-AMINO BUTYRIQUE ET ASPARTIQUE LIBRES	68
I) Introduction	68
1) Les acides aminés libres du cerveau	68
2) L'acide glutamique	68
A) Origine de l'acide glutamique	68
B) Métabolisme de l'acide glutamique	70
a) Réactions de transamination	70
b) Oxydation directe de l'acide glutamique	72
c) La glutamine	72
d) Le « shunt » de l'acide γ -aminobutyrique	73
e) Métabolisme de l'acide glutamique	76
3) L'acide γ -aminobutyrique	78
A) L'acide γ -aminobutyrique et la barrière sang-cerveau	78
B) Importance physiologique de l'acide γ -aminobutyrique	78
4) L'acide aspartique	79
II) Techniques	80
1) Extraction des acides aminés	80
2) Séparation des acides aminés	81
3) Dosage des acides aminés	83
III) Résultats et discussion	84
1) Rats témoins	84
2) Rats au jeûne protéique	85
3) Rats en inanition partielle	86
V) LA DECARBOXYLASE DE L'ACIDE GLUTAMIQUE	87
I) Introduction	87
1) Rôle du phosphate de pyridoxal	87
2) Importance du groupement thiol	88
3) Spécificité de l'enzyme	88
4) Influence du pH	89
5) Purification de l'enzyme	89
II) Techniques	89
III) Résultats	90
VI) INCORPORATION DU CARBONE DU GLUCOSE (U-^{14}C) DANS LES ACIDES AMINÉS LIBRES	92
I) Introduction	92
1) Etudes <i>in vitro</i>	92
2) Etudes <i>in situ</i> - Perfusion	93
3) Etudes <i>in vivo</i>	93
4) Métabolisme du glucose <i>in vivo</i>	94
II) Techniques	94
1) Injection du glucose (U- 14 C)	94
2) Extraction des acides aminés	95
3) Séparation des acides aminés	95
4) Détermination de la radioactivité	96
III) Résultats et discussion	96
1) Rats témoins	96
2) Rats au jeûne protéique	101
3) Rats en inanition partielle	108
VII) DISCUSSION GENERALE	112
1) L'acide désoxyribonucléique et les protéines du cerveau	112
2) Les acides aminés du cerveau	115
Bibliographie	119
Table des matières	135

DEUXIÈME THÈSE

Proposition donnée par la Faculté

Transformation des stéroïdes par action des microorganismes



Vu, Approuvé
et Permis d'Imprimer
Nancy, le 13/10/67
Le Doyen de la Faculté
des Sciences
Signé :
J. AUBRY

IMPRIMERIE LÉON LOUIS & C^{ie}
57 - BOULAY-MOSELLE
7-2484

Dépôt légal n° 44
4^e trimestre 1967

